Aus dem Institut für Toxikologie der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Dr. h. c. H. Remmer

Verlauf der Ausscheidung von Perazin-Metaboliten im Harn psychiatrischer Patienten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von

Andreas Traugott Lauffer
aus Karlsruhe

1984

Aus dem Institut für Toxikologie der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Dr. h. c. H. Remmer

Verlauf der Ausscheidung von Perazin-Metaboliten im Harn psychiatrischer Patienten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von

Andreas Traugott Lauffer

aus Karlsruhe

1984

Dekan: Prof. Dr. med. G. Fichtner

1. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. U. Breyer-Pfaff

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. B. Pflug, Frankfurt

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
2.	MATERIAL UND METHODEN	11
2.1.	Substanzen	11
2.1.1.	Vergleichssubstanzen	11
2.1.1.1.	Per-SO	11
2.1.1.2.	DMP-SO	11
2.1.1.3.	PPMED-SO	12
2.1.1.4.	PPED-SO	13
2.1.1.5.	PPA-SO	13
2.1.2.	Patientenharn	13
2.2.	Geräte	14
2.3.	Bestimmung der Perazin-Metaboliten im Harn	14
2.3.1.	Extraktion der unpolaren unkonjugierten Metaboliten	14
2.3.2.	Dünnschichtchromatographie	17
2.3.3.	Spektrophotometrische Messungen	21
2.3.4.	Rechnerische Auswertung der Meßwerte	21
2.4.	Wiedergewinnungsversuche	22
2.4.1.	Bestimmung der Wiedergewinnung im gesamten Analysengang	22
2.4.2.	Bestimmung der Wiedergewinnung bei einem chromatographischen Einzelschritt	22
2.4.3.	Bestimmung der Extrahierbarkeit aus saurer und alkalischer wässriger Lösung	23
2.5.	Bestimmung von Kreatinin im Harn	23
2.6.	Bestimmung von 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglykol im Harn	24
2.7.	Feststellung des psychopathologischen Befundes	24
3.	ERGEBNISSE	25
3.1.	Ergebnisse der Wiedergewinnungsversuche	25
3.1.1.	Wiedergewinnung der Metaboliten im gesamten Analysengang	25

Seite

3.1.1.1.	Wiedergewinnung von Per-SO	25
3.1.1.2.	Wiedergewinnung von DMP-SO	27
3.1.1.3.	Wiedergewinnung von PPMED-SO	27
3.1.1.4.	Wiedergewinnung von PPED-SO	30
3.1.1.5.	Wiedergewinnung von PPA-SO	30
3.1.2.	Wiedergewinnung bei einem chromatographischen Einzelschritt	32
3.1.3.	Extrahierbarkeit aus saurer und alkalischer wässriger Lösung	33
3.2.	Ausscheidung der Perazin-Metaboliten im Harn	33
3.2.1.	Patient M.S.: Ausscheidung der Perazin-Metaboliten bei Beginn einer Behandlung	34
3.2.2.	Patient A.H.: Ausscheidung der Perazin-Metaboboliten während einer Behandlung mit unterschiedlicher Dosis und nach späterer Dosisreduktion	38
3.2.3.	Patientin A.W.: Ausscheidung der Perazin-Metaboliten während einer Behandlung und nach Absetzen	41
3,3.	Ergebnisse der Kreatinin-Bestimmung	46
3.4.	Ergebnisse der MHPG-Bestimmung	46
3.5.	Psychopathologische Befunde	48
3.5.1.	Patient M.S.	48
3.5.2.	Patient A.H.	48
3.5.3.	Patientin A.W.	48
4.	DISKUSSION	49
4.1.	Beurteilung der Methode	49
4.2.	Beurteilung der Ergebnisse	51
4.2.1.	Patient M.S.	51
4.2.2.	Patient A.H.	54
4.2.3.	Patientin A.W.	55

Seite

4.3. Vergleich der gefundenen Ergebnisse mit den Daten der Literatur 56

4.4. Beziehungen zwischen dem Muster der Harnmetaboliten, der MHPG-Ausscheidung im Harn und dem psychopathologischen Befund 64

4.5. Pharmakologisch aktive Neuroleptika-Metaboliten 66

4.6. Neuroleptika-Absetzversuche 70

5. ZUSAMMENFASSUNG 75

6. LITERATURVERZEICHNIS 77

ABKÜRZUNGEN

Per : N-(γ-(Phenothiazinyl-10)-propyl)-N'methyl-piperazin
=Perazin

DMP : N-(γ-(Phenothiazinyl-10)-propyl)-piperazin
= Desmethylperazin

PPMED : N-(γ-(Phenothiazinyl-10)-propyl)-N'-methyl-ethylendiamin

PPED : N-(γ-(Phenothiazinyl-10)-propyl)-ethylendiamin

PPA : γ-(Phenothiazinyl-10)-propylamin

SO : Sulfoxid

MHPG : 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglykol

DC : Dünnschichtchromatographie

R_F : Retardationfactor
(= $\frac{\text{Bande der gesuchten Substanz - Auftragungsfront}}{\text{Laufmittelfront - Auftragungsfront}}$

BPRS : Brief psychiatric rating scale
(= kurze psychiatr. Bewertungsskala)

1. EINLEITUNG

Phenothiazinderivate sind zusammen mit Butyrophenonderivaten die meistgebrauchten Arzneimittel für die Behandlung von Erkrankungen des schizophrenen Formenkreises.
Die chemische Struktur der Phenothiazine besteht aus 3 Ringen, wobei 2 Benzolringe durch ein Schwefel- und ein Stickstoffatom verbunden sind. Besonders durch Substitution am C-Atom in Position 2 und am N-Atom in Position 10 entstanden wichtige Derivate:

- Substitution am C_2 durch elektronenziehende Gruppen verstärkt die neuroleptische Potenz
- Substitution am N_{10} durch eine Propylseitenkette mit basischen Substituenten führt zur Bildung der zwei Hauptklassen, der Dimethylamino-substituierten und der Piperazin-substituierten Phenothiazine.

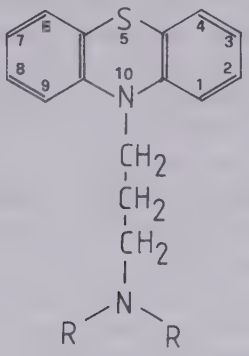

Abb.1.: Strukturformel der Phenothiazin-Neuroleptika

Somit stimmen alle als Neuroleptika eingesetzten Phenothiazinabkömmlinge in ihrer 3-Ringstruktur, der Seitenkette mit 3 C-Atomen und der daran gebundenen Aminogruppe überein und liegen als tertiäre Amine vor. Diese Tatsache scheint wichtig bei der Beobachtung, daß durch eine sonst chemisch heterogene Gruppe von Psychopharmaka qualitativ ähnliche erwünschte und unerwünschte Wirkungen erzielt werden können.

Neuroleptika sind Substanzen, die eine antipsychotische Wirkung besitzen, ohne das Bewußtsein und die intellektuellen Fähigkeiten wesentlich zu beeinflussen. Die behandelten Patienten gelangen in einen Zustand der relativen Indifferenz gegenüber ihrer Umwelt, ihre psychische Erregbarkeit wird gehemmt, ihre innere Spannung vermindert, der Antrieb reduziert, die Angst verringert. Symptome wie Halluzinationen und Wahnbilder können schwächer werden oder ganz verschwinden.
Neben der antipsychotischen besitzen die Neuroleptika auch unterschiedlich stark ausgeprägte sedierende und vegetativ dämpfende Wirkungen.
Eine besonders für die klinische Praxis brauchbare Einteilung der antipsychotischen Arzneimittel basiert auf der Angabe ihrer neuroleptischen Potenz, wobei als Bezugssubstanz Chlorpromazin dient, dessen Stärke willkürlich gleich 1 gesetzt wird (32).
Es wurde davon ausgegangen, daß zwar alle Phenothiazinderivate dieselbe Art der Wirkung erzielen können, dies jedoch durch Gabe unterschiedlich großer Dosen. Die neuroleptische Potenz ist also proportional dem dem Kehrwert äquieffektiver Dosen.

- Schwach potente Neuroleptika: neuroleptische Potenz 0,5- 1
  Typ Thioridazin (0,5)
- Mittelstark potente Neuroleptika: neuroleptische Potenz 1- 5
  Typ Chlorpromazin (1)
- Stark potente Neuroleptika: neuroleptische Potenz 10-20
  Typ Trifluoperazin (10)
- Sehr stark potente Neuroleptika: neuroleptische Potenz 20-50-
  Typ Haloperidol (50 100-200

Neuroleptika gelten als relativ sichere Arzneimittel mit einer großen therapeutischen Breite und einer flachen Dosis-Wirkungs-Kurve. Sie machen nicht abhängig.

Für die unerwünschten Wirkungen gilt (analog zu den erwünschten Wirkungen), daß sich die einzelnen Phenothiazine nur in quantitativer Hinsicht unterscheiden.

- Besonders sind die unerwünschten Wirkungen auf das Zentrale Nervensystem hervorzuheben. Es lassen sich 5 verschiedene Syndrome der Störungen des extrapyramidalmotorischen Systems differenzieren: Parkinson-Syndrom mit ausgeprägtem Tremor und Rigor; Akathisie; akute Dystonie; Spätdyskinesien; perioraler Tremor.
- Auf die Beeinflussung des Autonomen Nervensystems lassen sich Mundtrockenheit, Obstipation, Akkommodationsstörungen und eine verstopfte Nase zurückführen.
- Eine sehr wichtige Nebenwirkung ist die orthostatische Hypotonie, vor allem bei schwach potenten Neuroleptika.
- Es kann zu Störungen der Wärmeregulation kommen.
- Eine Hyperprolaktinämie mit sekundärer Amenorrhoe und Galaktorrhoe wird mit der antidopaminergen Wirkung erklärt, die den PIF (prolactin inhibiting factor) hemmt.
- Eine selten auftretende Knochenmarkstoxizität mit Agranulozytose ist nachgewiesen.
- Konzentrationsanstiege der Transaminasen GOT und GPT im Serum als Zeichen einer Leberparenchymschädigung lassen sich während einer längeren Behandlung beobachten.
- Das Vorkommen von Retinopathien wird wahrscheinlich durch eine besondere Affinität der Phenothiazine zum Pigmentepithel verursacht.
- In der Haut treten allergische Hautreaktionen verschiedener Intensität, Photosensibilisierung und Pigmentanomalien auf (2).

Durch 3 Phänomene ist ein besonderes Interesse an pharmakokinetischen Studien über Phenothiazinderivate bedingt:

1) das relativ späte Einsetzen der therapeutischen Wirkung nach Beginn der Therapie (ein positiver Effekt ist nach etwa 3 Wochen zu sehen, jedoch kann es 1 1/2 bis 6 Monate dauern, bis die volle therapeutische Wirksamkeit erreicht wird);
2) die verzögerte Beendigung der therapeutischen Wirkung nach Absetzen der Therapie;
3) die charakteristischen, spät auftretenden unerwünschten Wirkungen (vor allem Spätdyskinesien und perioraler Tremor,

sowie dermatologische und ophthalmologische Komplikationen).

Einige Jahre nach der Einführung von Phenothiazinen in die Klinik entwickelten FORREST et al.(20) einfache und schnelle Farbreaktionen, mit deren Hilfe ein erster qualitativer oder semi-quantitativer Nachweis von Metaboliten verschiedener Phenothiazinabkömmlinge im Patientenharn möglich war.
Später wurden unterschiedliche Methoden beschrieben für die quantitative Bestimmung der verschiedenen Fraktionen der unkonjugierten und konjugierten, unpolaren und polaren Metaboliten sowie zur Erfassung des Gesamtgehalts im Harn an Phenothiazinmetaboliten, hauptsächlich des Chlorpromazins.
Aus den verschiedenen Literaturangaben ging hervor, daß der Phenothiazin-Stoffwechsel bei verschiedenen Spezies und Individuen zwar unterschiedlich ist, jedoch intraindividuell bei einer konstanten Tagesdosis gleichbleibt (22).
Bis jetzt gibt es nur wenige Studien über die quantitative Metabolitenausscheidung nach Absetzen einer Therapie mit Phenothiazinen beim Menschen.
1962 hatten FRIEDHOFF und VAN WINKLE (23) den Harn schizophrener Patienten mit Chloroform extrahiert und nach einer Papierchromatographie durch eine bestimmte Färbemethode einen rosafarbenen Fleck ("pink spot") entwickelt, den sie als homogene, aus dem endogenen Stoffwechsel stammende und ursächlich mit der schizophrenen Erkrankung in Zusammenhang stehende Substanz ansahen. 9 Jahre später wiesen SIEGEL und TEFFT (41) in einer kritischen Auseinandersetzung mit der bis dahin über den "pink spot" publizierten Literatur und aufgrund eigener Untersuchungen nach, daß das "pink spot"-Material im Harn Schizophrener aus mindestens 5 verschiedenen Substanzen bestand, darunter auch ein Chlorpromazin-Metabolit bei den mit diesem Neuroleptikum behandelten Patienten, dem Nor_2-chlorpromazinsulfoxid, das identisch ist mit Cl-PPA-SO. Aus ihren Studien wurde deutlich, daß die Dauer der Ausscheidung von Cl-PPA-SO im Harn nach Absetzen der Chlorpromazin-Therapie abhängig war von der Dosis und der Dauer der Behandlung: Bis zu 60 bzw. 65 Tage nach Absetzen einer Langzeittherapie mit 600 bis 1.200 mg Chlorpromazin täglich konnte

das Cl-PPA-SO als "pink spot"-Material im Harn der Patienten gefunden werden. Nach Absetzen einer niedriger dosierten Chlorpromazin-Dauerbehandlung mit 100 bis 150 mg täglich war der Nachweis des Harnmetaboliten 5 bis 7 Tage möglich. Bei einem gesunden Probanden konnte nach 10-tägiger Einnahme von 75 mg Chlorpromazin täglich nur noch 1 Tag nach Absetzen der Neuroleptikumgabe der Nachweis des "pink spot"-Materials geführt werden.
SVED et al. (42) verfolgten bei chronisch schizophrenen Patienten die Harnausscheidung von Sulfoxiden und konjugierten sowie unkonjugierten Phenolen nach Absetzen der Therapie mit Chlorpromazin. Dabei stellten sie fest, daß nach etwa 30 Tagen das Wiederauftreten klinischer Symptome der Schizophrenie zusammenfiel mit dem Verschwinden nachweisbarer Mengen von Harnmetaboliten. Die Unterdrückung der schizophrenen Symptome schien solange möglich, wie das Chlorpromazin selbst beziehungsweise seine Metaboliten im Organismus gespeichert seien.
Für die Hypothese einer Akkumulation im Körpergewebe sprach ebenso die Feststellung einer Latenz von mindestens 10 Tagen, bis sich bei Therapie mit einer gleichbleibenden Tagesdosis ein Plateau der mit dem Harn ausgeschiedenen Metaboliten erkennen ließ (42).

Die hier vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Kinetik von Harnmetaboliten des Perazins anhand von Längsschnittuntersuchungen bei psychiatrischen Patienten unter 3 verschiedenen Bedingungen:
1) zu Beginn einer Therapie
2) während einer Therapie
3) während und nach Absetzen einer Therapie.

Perazin scheint als Modell stellvertretend für die Piperazin-substituierten Phenothiazine deshalb geeignet, weil
- die Therapie in relativ hohen Dosen von 300-600 mg/die erfolgt, so daß die quantitative Bestimmung einer großen Anzahl von Metaboliten möglich ist.
- durch Substitution an Position C_2 Prochlorperazin (Cl statt H)

und Trifluoperazin (CF_3 statt H), durch zusätzliche Substitution an N_4 des Piperazinrings (Hydroxyäthyl - statt Methylgruppe) Perphenazin (Cl statt H an C_2) beziehungsweise Fluphenazin (CF_3 statt H an C_2) abgeleitet werden können.

Perazin wurde 1958 als Neuroleptikum unter dem Handelsnamen Taxilan® in die Therapie eingeführt (19). Es gilt als mittelstarkes Neuroleptikum, das sowohl für die Beeinflussung akuter psychotischer Zustände als auch für die Langzeittherapie ambulanter Patienten geeignet ist.
Hervorgehoben wird seine gute Verträglichkeit.
Als Zielsymptome des Perazins gelten Wahnstimmungen, gespannter und ängstlicher Affekt, formale Denkstörungen und Halluzinationen (4).
Zu den früh auftretenden unerwünschten Wirkungen, die bei einem Teil der Patienten länger anhalten, zählen vor allem Müdigkeit, Mundtrockenheit und Schwindel(4).

Die ersten Studien über den Perazin-Stoffwechsel wurden von BREYER (5) anhand von Bestimmungen der Harnmetaboliten bei psychiatrischen Patienten durchgeführt. Dabei konnte gezeigt werden, daß das Perazin-Molekül im Prinzip denselben Biotransformationsschritten unterworfen ist (wenn auch in anderen quantitativen Verhältnissen), wie sie vorher schon für andere Phenothiazinabkömmlinge und besonders für Chlorpromazin (22) festgestellt worden waren: N-Demethylierung, Oxidation des S-Atoms zum Sulfoxid, des N-Atoms zum N-oxid, Einführung von Hydroxylgruppen am aromatischen Ringsystem als strukturverändernde Phase-I-Reaktion und Vorbedingung für die anschließende Konjugation, hauptsächlich mit Glukuronsäure. Es können auch Kombinationen dieser Reaktionen vorkommen.

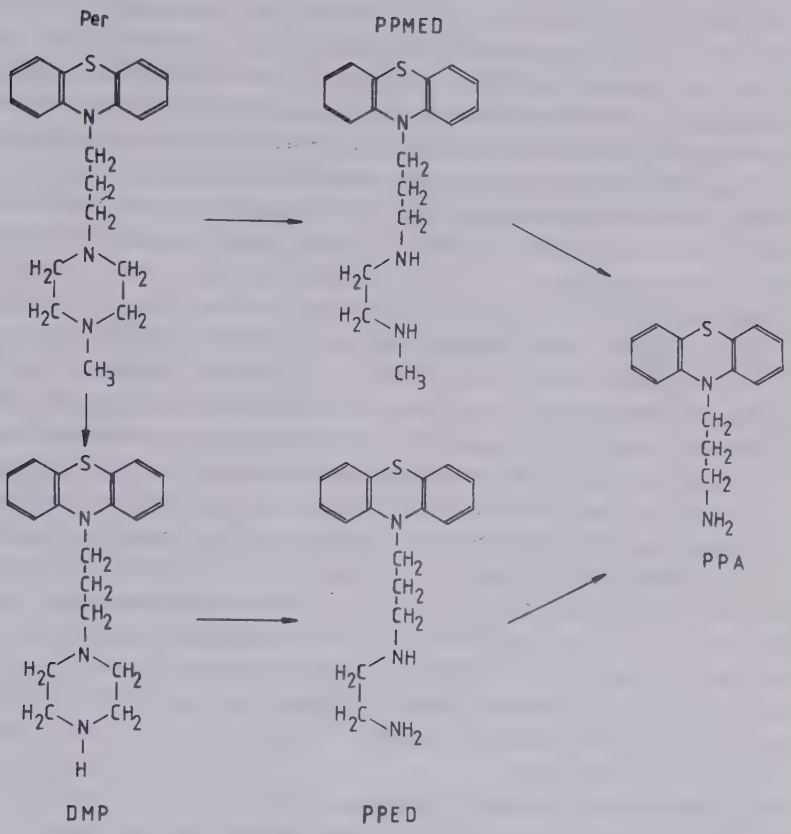

Abb.2.: Abbau des Perazins und der im Gewebe auftretenden Metaboliten

Später wurde bei Untersuchungen der Gewebemetaboliten von Perazin an Ratten (6) erstmals ein Spaltprodukt des Piperazinrings, PPED, nachgewiesen. Durch die Identifizierung von PPA in Rattengewebe durch BREYER et al. konnte gezeigt werden, daß in vivo über das partielle Ringabbauprodukt PPED ein vollständiger Abbau des Piperazins zum primären Amin PPA stattfindet.
Da bei dem Hauptmetaboliten von Perazin im Gewebe, PPED, die N-terminale Methylgruppe fehlte, kam als Vorläufer das N-Demethylierungsprodukt von Perazin, DMP, in Frage. Analog dazu konnte als direktes partielles Ringabbauprodukt von Perazin das N-methylierte Ethylendiaminderivat PPMED gefunden werden. Dessen Gewebskonzentrationen betrugen bei der Ratte nur etwa 10% der PPED-Konzentrationen.
Auffallend sind die langen biologischen Halbwertszeiten der Ethylendiaminderivate im Rattengewebe (z.B. für PPED 7-14 Tage, im Gehirn noch länger) im Vergleich zu Perazin (weniger als 1 Tag) und DMP (etwa 1 Tag) (8). Die Akkumulation von PPED und PPMED ist deshalb von Interesse, weil die Ethylendiaminderivate als Gewebespeichersubstanzen den Vorrat bilden für den weiteren Abbau zu PPA, das als Metabolit sowohl der Piperazin-substituierten als auch der Dimethylamino-substituierten Phenothiazine identifiziert wurde (9).
Bei einer vergleichenden Studie über Harnmetaboliten des Perazins mit 8 psychiatrischen Patienten stellten KANIG und BREYER (29) nur relativ geringe interindividuelle Unterschiede der renal ausgeschiedenen Metabolitenmuster fest. Die intraindividuellen Schwankungen waren - außer für Perazin und DMP - ebenfalls nicht groß.
Ein Zusammenhang zwischen klinischen Veränderungen und den Mengen (oder Mengenänderungen) verschiedener Metaboliten im Harn konnten bei dieser Studie nicht festgestellt werden.
In den ersten Wochen nach Beginn der Therapie mit Perazin wurde durchgehend eine Zunahme des Verhältnisses der Demethylierungsprodukte zu den entsprechenden tertiären Aminen (als Demethylierungsrate bezeichnet) beobachtet.
Daß die beiden Ethylendiaminderivate PPED und PPMED beim Menschen - analog zu den beschriebenen Verhältnissen bei ver-

schiedenen Tierspezies - im Gewebe akkumuliert werden, war die Schlußfolgerung nach einer Untersuchung von BREYER (7) über die Harnausscheidung von Perazin-Metaboliten 4 Wochen lang nach Absetzen einer Behandlung bei 3 Patienten.
BREYER und GAERTNER (8) hatten 1973 bei 2 Patienten die Mengen verschiedener Metaboliten im Harn während und bis zu 18 bzw. 30 Tagen nach Absetzen einer Therapie mit 600 mg Perazin täglich verfolgt. Die Mengen der Metaboliten PPMED-SO, PPED-SO und PPA-SO fielen während des Beobachtungszeitraums nach Therapieende kaum ab, woraus auf eine Akkumulation der sulfidischen Ethylendiaminderivate im Gewebe unter der Behandlung geschlossen wurde. Die damals gemessenen Werte waren jedoch nicht aufgrund experimentell bestimmter Wiedergewinnungsraten korrigiert worden. Außerdem besteht Interesse an weiteren Fallstudien, möglichst langen Untersuchungszeiträumen nach Absetzen der Therapie und auch an der Bestimmung der Muster von Harnmetaboliten unter anderen Bedingungen wie z.B. bei Beginn einer Behandlung. In dieser Untersuchung wurden die 5 im Schema 1 aufgeführten Sulfoxide im Harn bestimmt, die als renal ausgeschiedene Biotransformationsprodukte bei mit Perazin behandelten Patienten nachgewiesen sind. Ihr Vorkommen erlaubt Rückschlüsse auf die entsprechenden sulfidischen Gewebemetaboliten beim Menschen.

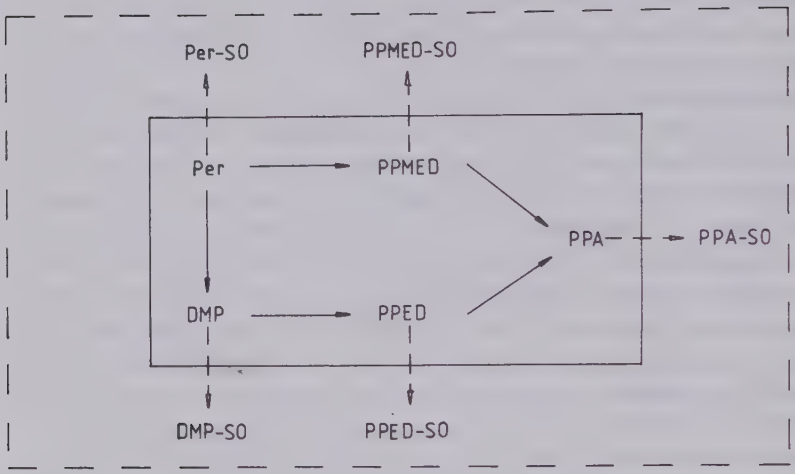

Abb.3.: Schema zur Bildung der renal eliminierten Perazin-Metaboliten aus den sulfidischen Vorstufen im Gewebe. (siehe Abb.2.)

SEDVALL et al. (39) hatten 1979 berichtet, daß die Konzentration von 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglykol (als Hauptmetabolit von Noradrenalin im ZNS) im Liquor cerebrospinalis mit der Besserung des klinischen Bildes während einer Neuroleptika-Therapie korrelierte. Um zu überprüfen, ob diese Beobachtung auch auf die Konzentration des Noradrenalin-Metaboliten im Harn zutrifft, wurden bei der hier vorgelegten Arbeit zusätzlich MHPG im Harn bestimmt sowie der Verlauf des psychopathologischen Befundes registriert.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Substanzen

2.1.1. Vergleichssubstanzen

2.1.1.1. Per-SO

Synthese

Per wurde von Chemische Fabrik Promonta, Hamburg, zur Verfügung gestellt.

Per-SO wurde von BREYER (5) nach einem früher veröffentlichten Verfahren hergestellt und stand zur Verfügung.

Schmelzpunkt: 146° - 147,5°C

2.1.1.2. DMP-SO

Synthese

DMP-Malonat wurde von Chemische Fabrik Promonta, Hamburg, zur Verfügung gestellt.

DMP-SO wurde nach einem Verfahren ähnlich wie unter 2.1.1.1. angegeben synthetisiert:

400 mg DMP-Malonat wurden in 15 ml 10% Essigsäure gelöst und nach Zugabe von 0,5 ml 33% H_2O_2 im Wasserbad 15 Minuten lang auf 60° - 70°C erhitzt.

Nach Abkühlung wurde alkalisiert, mit 3x10 ml Chloroform extrahiert und die Lösung auf 7 ml eingeengt.

Bei Zusatz von 200 mg Malonsäure in 5 ml Äther fiel ein Salz aus, das sich beim Erwärmen in einem Äthanol-Methanol-Gemisch löste und beim Abkühlen langsam in schönen Kristallen abschied. Anschließend wurde umkristallisiert aus Methanol. Die Ausbeute der ersten Fraktion betrug 220 mg, aus der Mutterlauge wurden weitere 105 mg gewonnen. Die Elementaranalyse bewies, daß es sich um das Monomalonat von DMP-SO handelte.

$C_{22}H_{27}N_3O_5S$ (445,5) Ber. C 59,3 H 6.1 N 9.4
Gef. C 59.5 H 6.2 N 9.4

Schmelzpunkt: 158° - 160°C

2.1.1.3. PPMED-SO

Synthese

PPMED wurde nach einem von BREYER et al. (10) angegebenen Verfahren synthetisiert: 300 mg γ-(Phenothiazinyl-10)-propylchlorid wurden in 2 ml trockenem Dimethylsulfoxid gelöst und innerhalb von 10 Minuten bei 95° - 100°C zu 3 ml N-Methyl-ethylendiamin gegeben. Nach weiteren 20 Minuten Erhitzen bei 95° - 100°C wurde die Mischung zwischen 30 ml 1n NaOH und 15 ml Chloroform verteilt. Die organische Phase wurde mit weiteren 30 ml NaOH gewaschen und dann mit 20 ml 1n HCl extrahiert. Die wässrige Phase wurde nach Waschen mit 5 ml Chloroform mit 4 ml 25% Ammoniak alkalisiert und dreimal mit 7 ml Benzol extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt und eingedampft, um anschließend in einer präparativen Dünnschicht-Chromatographie auf 12 manuell gestrichenen Platten das erwünschte PPMED vom unerwünschten Isomer zu isolieren. Als Laufmittel wurde ein Gemisch von Isopropanol: Chloroform: 25% Ammoniak: Wasser (16:8:1:1) verwendet. Das Extraktionsverfahren ist unter 2.3.2. angegeben. PPMED-SO wurde aus dem so gewonnenen PPMED in einem der unter 2.1.1.2. beschriebenen Sulfoxidationsmethode ähnlichen Verfahren hergestellt: Nach Lösung in 12 ml 10% Essigsäure und Zugabe von 0,8 ml 33% H_2O_2 wurde im Wasserbad 20 Minuten lang auf 60° - 70°C erhitzt. Die Extraktion erfolgte nach Alkalisieren mit Ammoniak 3 mal in 4 ml Chloroform. Das Reaktionsprodukt wurde auf 4 selbstgestrichenen Platten in einem Fließmittelgemisch von Chloroform: Isopropanol: Aceton (15:3:6) in Ammoniak-Atmosphäre präparativ gereinigt, worauf es großenteils kristallin ausfiel. Eine Reinigung der gesamten Menge durch Umkristallisation gelang jedoch nicht. Deshalb wurde das Produkt analog 2.1.1.2. mit Malonsäure in einem Chloroform-Äther-Gemisch als Salz gefällt

und anschließend aus Äthanol umkristallisiert.
Die Ausbeute betrug etwa 70 mg.
Laut Elementaranalyse handelte es sich um das Dimalonat.

$C_{24}H_{31}N_3O_9S$ (537.6) Ber. C 53.6 H 5.8 N 7.8
Gef. C 53.3 H 6.0 N 7.8

Schmelzpunkt: 136° - 137°C

2.1.1.4. PPED-SO

Synthese
PPED lag aus einer Synthese nach BREYER et al. (10) als Dimalonat kristallin vor.
PPED-SO wurde aus 300 mg PPED-Dimalonat wie unter 2.1.1.3. angegeben hergestellt.
Die Elementaranalyse bewies das Vorliegen eines Dimalonats.

$C_{23}H_{29}N_3O_9S$ (523.6) Ber. C 52.8 H 5.6 N 8.0
Gef. C 52.5 H 5.8 N 8.0

Schmelzpunkt: 134° - 135°C

2.1.1.5. PPA-SO

Synthese
PPA war als Hydrochlorid vorhanden aus einer Synthese nach GODEFROI und WITTLE (26).
PPA-SO lag aus einer Synthese nach BREYER-PFAFF et al. (12) als freie Base vor und wurde zur Verfügung gestellt.
Schmelzpunkt: 148° - 151°C

2.1.2. Patientenharn

Es wurden jeweils 24 Stunden lang in 2-l-Plastikflaschen der Harn von Patienten gesammelt, die täglich zwischen 100 mg und 400 mg Perazin (berechnet als freie Base) einnahmen.
Wenn der Urin nicht frisch verarbeitet werden konnte, wurde er in der Tiefkühltruhe bei -20°C (im Höchstfall bis zu 2 Jahren) aufbewahrt.

Die Aufarbeitung erfolgte meist in Einzelportionen von 300 ml bis 500 ml (im Ausnahmefällen 90 ml bis 900 ml).
Vor dem Eindampfen wurde der pH des Urins bestimmt.

2.2. Geräte

Rotationsverdampfer:		Firma Büchi, Flavil, Schweiz
Schüttler	:	Supermixer, Firma Lab-Line Instruments, Melrose Park, Ill., USA
Zentrifuge	:	Laborzentrifuge, Firma Herraeus Christ, Osterode
Spektralphotometer	:	Modell PMQ II, Firma Carl Zeiss, Oberkochen
DC-Folien	:	Alugram® Sil G/UV $_{254}$; Firma Macherey-Nagel, Düren (die 20x20 cm großen Folien sind mit Kieselgel 60 beschichtet, dem ein Fluoreszenz-Indikator beigemischt ist)

2.3. Bestimmung der Perazin-Metaboliten im Harn

2.3.1. Extraktion der unpolaren unkonjugierten Metaboliten

Die aus dem aufgetauten und gekühlt aufbewahrten Sammelurin abgeteilten Proben wurden im Rotationsverdampfer bei Unterdruck und einer Temperatur von 35° - 45°C im Wasserbad auf ungefähr die Hälfte des ursprünglichen Volumens eingeengt. Zur Optimierung der Extraktion erfolgte eine Alkalisierung der

konzentrierten Harnprobe auf pH 11 mit 5n NaOH, bevor sie zusammen mit derselben Menge $CHCl_3$ im Scheidetrichter 5 min. lang geschüttelt wurde. Nach 30 min. hatten sich 2 Phasen gebildet und so gut voneinander abgesetzt, daß die untere $CHCl_3$-Phase in Zentrifugengläser abgefüllt werden konnte. Nach 10 min. Zentrifugieren bei 6.000 U/min. konnte die klare untere $CHCl_3$-Phase mit einer Vollpipette herausgesaugt und über einen Faltenfilter in einen Rundkolben gegeben werden. Die Überstände aus mehreren Zentrifugengläsern wurden vereinigt und nochmals 10 min. bei 6.000 U/min zentrifugiert, die gewonnenen $CHCl_3$-Phasen ebenfalls dem Rundkolben zupipettiert.
Anschließend erfolgte eine Nachextraktion mit dem gleichen Volumen $CHCl_3$ nach demselben Verfahren. Um den Verlust durch im Filterpapier zurückbleibende Substanz gering zu halten, wurde zum Abschluß 2 mal mit 2 ml $CHCl_3$ nachgespült.
Die im Rundkolben vereinigten Extrakte wurden im Rotationsverdampfer bei einer Wassertemperatur von 25° - 30°C bis auf wenige Milliliter eingedampft, der Rückstand in ein 10 ml-Glas mit konischem Boden überpipettiert. Mit je 4 ml $CHCl_3$ erfolgte zweimaliges Nachwaschen des Kolbens. Unter Stickstoff im 40°C warmen Wasserbad wurde eingedampft, das Glas anschließend wasserdicht mit Parafilm® verschlossen, die Probe im Kühlschrank aufbewahrt.

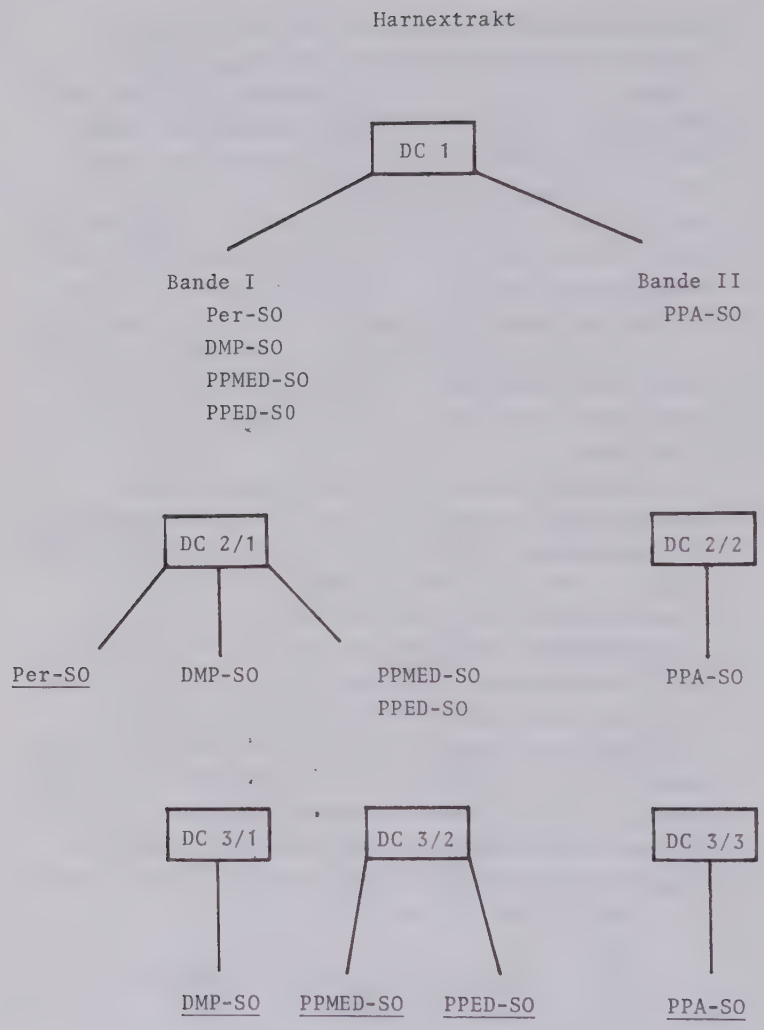

Abb.4.: Dünnschicht-chromatographische Auftrennung und Reinigung der 5 Metaboliten aus dem Harnextrakt in 3 Schritten (DC 1-3)

2.3.2. Dünnschichtchromatographie
(vgl. Abb.4 und Tabelle 1)

Die erste chromatographische Trennung der aus dem Harn extrahierten unkonjugierten Perazin-Metaboliten DC 1 wurde in Laufmittel A ausgeführt.
Bei einer Breite der Auftragslinie von 12 cm wurde die Anzahl der benötigten DC-Fertigfolien stets so gewählt, daß sie dem Verhältnis von 2 Folien pro ungefähr 300 ml uneingedampfter Harnprobe aus einem 24 Stunden-Sammelurin während der Therapie mit der vollen Tagesdosis entsprach. Bei Harnproben nach Absetzen der Behandlung wurde entsprechend modifiziert.
Grundsätzlich wurden bei DC 1 alle 5 gesuchten Metaboliten als Vergleichssubstanzen punktförmig seitlich der Auftragslinie im Abstand von 1 cm aufgetragen.
Damit eine ausreichende Trennschärfe zwischen Bande I und Bande II erreicht wurde, folgte auf den ersten Durchlauf nach kurzem Trocknen der Folien unter dem Abzug ein zweiter Lauf in demselben Fließmittel.
Für den zweiten chromatographischen Trennungsschritt wurde (unter Berücksichtigung des oben angegebenen ungefähren Verhältnisses von Harnvolumen zu Folienanzahl) der Extrakt der Bande I auf eine Folie 12 cm breit aufgetragen: DC 2/1. Im Laufmittel B entwickelte sich eine distinkte Per-SO-Bande, die genügend rein isoliert werden konnte.
Für die DMP-SO-Bande hat sich ein anschließender dritter Reinigunsschritt DC 3/1 im Laufmittel C_1 auf einer halben Folie mit 6 cm Auftragsbreite als notwendig erwiesen.
Die Banden von PPMED-SO und PPED-SO ließen sich erst durch eine dritte Chromatographie DC 3/2 im Laufmittel C_2 ausreichend gut getrennt gewinnen, wofür bei 6 cm Auftragsbreite nur eine halbe Folie benutzt wurde.
Das in dem Extrakt aus Bande II enthaltene PPA-SO mußte durch zwei weitere chromatographische Schritte als DC 2/2 im Laufmittel B auf einer Folie mit 12 cm Auftragsbreite und als DC 3/3 im Laufmittel C_3 auf einer halben Folie mit 6 cm Auftragsbreite gereinigt werden.

Tabelle 1: Für die Dünnschicht-Chromatographie verwendete Laufmittel (Angaben in ml pro DC-Kammer mit max. 2 Folien)

Laufmittel A : Chromatographie des gesamten Harnextrakts = DC 1

FE-Gemisch	24 (Essigester: Eisessig: Äthanol: Wasser = 56:17:17:10)
Dichloräthan	14,4
Äthanol	3

Laufmittel B : Auftrennung von Bande I = DC 2/1 und Auftrennung von Bande II = DC 2/2

Chloroform	20
Isopropanol	3
25% Ammoniak	(3 ml in eine Rinne zur Erzeugung einer Ammoniak-Atmosphäre)

Laufmittel C_1: Reinigung von DMP-SO = DC 3/1

Methanol	18
25% Ammoniak	2

Laufmittel C_2: Auftrennung von PPMED-SO und PPED-SO = DC 3/2

Chloroform	8
Isopropanol	2
Aceton	6
25% Ammoniak	(3 ml in eine Rinne zur Erzeugung einer Ammoniak-Atmosphäre)

Laufmittel C_3: Reinigung von PPA-SO = DC 3/3

Aceton	9
Isopropanol	7
1n Ammoniak	4

Tabelle 2: R_F-Werte der Perazin-Metaboliten in den verwendeten Laufmitteln

Laufmittel	Per-SO	DMP-SO	PPMED-SO	PPED-SO	PPA-SO
A	0,07-0,11	0,08-0,12	0,05-0,11	0,04-0,10	0,33-0,42
B	0,76-0,82	0,27-0,36	0,11-0,15	0,08-0,12	0,47-0,53
C_1	-	0,45-0,52	-	-	-
C_2	-	-	0,30-0,35	0,18-0,26	-
C_3	-	-	-	-	0,50-0,58

Die Extrakte wurden in 12-15 Tropfen Chloroform gelöst und mit einer 100-µl-Blutzuckerpipette auf die Folien aufgetragen. Anschließend wurde zweimal mit derselben Menge Chloroform nachgespült.
Der Abstand der Auftragslinie vom unteren Folienrand betrug 1,5 cm.
Die Chromatographie wurde jeweils beendet, wenn die Laufmittelfront bis auf 2 cm den oberen Rand der Folie erreicht hatte.
Nach kurzem Trocknenlassen der Folien unter dem Abzug wurden unter 254 nm-Licht die UV-absorbierenden Banden durch Vergleich mit den am Rand aufgetragenen Referenzsubstanzen identifiziert und markiert. Besprühen der Folien mit aqua dest. erleichterte das Herausheben der jeweils interessierenden Kieselgelbanden, die mit Hilfe eines Spatels in 10-ml-Gläser gegeben und in 1 ml 2n NH_3 suspendiert wurden.
Aus dem alkalischen Milieu wurde zweimal mit Chloroform extrahiert: Nach Zugabe von 3 ml Chloroform mußte 2 Minuten lang geschüttelt werden, dann wurde 7 Minuten lang bei 3.000 U/min zentrifugiert, anschließend die Chloroformphase mit einer Pasteur-Pipette in ein Zwischenglas übergeführt. Nach kurzem Stehenlassen setzten sich an der Glaswand etwaige aus der Chloroformphase übernommene Verunreinigungen (Wasser, Kieselgel) ab, so daß später eine klare Lösung in ein drittes 10-ml-Glas mit konischem Boden umgegossen werden konnte.
Nach derselben Methode wurde anschließend nochmals mit 3 ml Chloroform extrahiert.
Die vereinigten Extrakte wurden unter Stickstoff im Wasserbad eingedampft und das wasserdicht verschlossene Glas im Kühlschrank bis zur weiteren chromatographischen Trennung oder der photometrischen Messung aufbewahrt.

2.3.3. Spektrophotometrische Messungen

Zur Bestimmung des UV-Spektrums wurden die isolierten Substanzen in 3 ml 0,1n H_2SO_4 mindestens eine Stunde lang unter mehrfachem Schütteln stehengelassen.
Um Verunreinigungen (z.B. durch mitextrahierte trübende Bindemittel aus den DC-Fertigfolien) abzutrennen, wurde kurz zentrifugiert und dann die klare H_2SO_4-Phase in die Quarzküvette mit 1 cm Lichtweg dekantiert.
Das UV-Spektrum wurde in 5-nm-Schritten von 240 nm bis 380 nm durchgemessen, wobei als Leerwert 0,1n H_2SO_4 diente.
Bei höheren Substanzkonzentrationen wurde, um im optimalen Meßbereich des Photometers zu bleiben, eine entsprechende Verdünnung mit 0,1n H_2SO_4 hergestellt.
Das UV-Spektrum des Harnextrakts der unpolaren unkonjugierten Metaboliten kann als aus Sulfiden und Sulfoxiden der Perazin-Metaboliten zusammengesetzt angesehen werden. Die Absorptionsdifferenzen wurden deshalb aus solchen Wellenlängen berechnet, bei denen die Werte im Sulfoxid-Spektrum maximal und im Sulfid-Spektrum minimal waren. Um sicherzustellen, daß die isolierten Sulfoxide keine Beimengungen von Sulfiden enthielten, wurde zusätzlich zur Differenz $\Delta E_{270-285}$ noch die Differenz $\Delta E_{255-280}$ bestimmt; die letzere ist bei Sulfiden positiv, bei reinen Sulfoxiden aber nahe bei Null.

2.3.4. Rechnerische Auswertung der Meßwerte

Die quantitative Bestimmung der sulfoxidierten Perazin-Metaboliten war möglich durch die Berechnung der Extinktionsdifferenz $\Delta E_{270} - E_{285}$ und die Kenntnis der Extinktionskoeffizienten, die sich auf 1 µmol / 3 ml 0,1 n H_2SO_4 beziehen:

Per-SO	:	2,255
DMP-SO	:	2,257
PPMED-SO	:	2,285
PPED-SO	:	2,310
PPA-SO	:	2,309

Die so erhaltenen Werte wurden unter Berücksichtigung
- der Verdünnung
- des entnommenen Aliquots aus der Harnprobe
- der entsprechenden Wiedergewinnungsrate

umgerechnet auf µmol im Harn ausgeschiedene Substanz pro 24 Stunden.

2.4. Wiedergewinnungsversuche

2.4.1. Bestimmung der Wiedergewinnung im gesamten Analysengang

Um den Über-alles-Verlust an Substanzen bei der Aufarbeitung zu ermitteln, wurden von den 5 Perazin-Metaboliten Standardlösungen hergestellt und in bekannten Mengen dem üblichen Probevolumen eines Leerharns zupipettiert.
Die Aufarbeitung erfolgte analog zu den unter 2.3. beschriebenen Verfahren.
Die Wiedergewinnungsrate wurde aus dem Verhältnis der wiedergewonnenen zur eingesetzten Menge berechnet.

2.4.2. Bestimmung der Wiedergewinnung bei einem chromatographischen Einzelschritt.

Zur Beurteilung der Frage, ob bestimmte Verunreinigungen im für die Extraktion verwendeten Chloroform (wie Phosgen oder Ethyl-chloroformat) und deren Reaktionen mit Perazin-Metaboliten (besonders den partiellen und vollständigen Piperazinringabbauprodukten) als Ursache der schlechten Wiedergewinnung eine Rolle spielen, wurde ein Temperaturversuch angesetzt: Bekannte Stammlösungen von PPMED-SO, PPED-SO und PPA-SO wurden mit Chloroform extrahiert, einmal bei einer Temperatur von 30°C und einmal bei einer Temperatur von 50°C bis auf ein kleines Volumen eingedampft und anstatt der Harnextrakte auf die DC-Folien aufgetragen. Anschließend wurde eluiert und, wie unter 2.3.3.angegeben, photometrisch gemessen.

2.4.3. Bestimmung der Extrahierbarkeit aus saurer und und alkalischer wässriger Lösung.

Zur Berechnung des Verteilungsquotienten wurden Lösungen von PPMED-SO, PPED-SO und PPA-SO in 4 ml 0,1n H_2SO_4 hergestellt, photometrisch gemessen und dann mit 4 ml Chloroform ausgeschüttelt. Nach Überpipettieren direkt in die Quarzküvetten wurden die jeweiligen Metaboliten in der wässrigen Phase gemessen.
Nach Zurückgießen der wässrigen Phasen in die 10-ml-Gläser wurde mit 0,2 ml 25% Ammoniak alkalisiert und erneut photometrisch gemessen.
Die alkalische Lösung wurde mit 4 ml Chloroform versetzt und nach Schütteln die wässrige Phase abpipettiert und photometrisch gemessen.
Als Verteilungsquotient wurde das Verhältnis der Konzentration eines Metaboliten in der organischen Phase zur Konzentration desselben Metaboliten in der wässrigen Phase berechnet.

2.5. Bestimmung von Kreatinin im Harn

Eine näherungsweise Überprüfung auf Vollständigkeit einer 24-Stunden-Harnsammlung ist durch die Bestimmung der Kreatininausscheidung möglich. Diese stellt für ein gesundes Individuum eine unter verschiedenen Nahrungs-, Arbeits- und Diuresebedingungen relativ konstante und mit der Muskelmasse korrelierte Größe dar.(43)
Die Bestimmungen der Kreatininkonzentration wurden im Psychopharmakologischen Labor der Nervenklinik der Universität Tübingen durchgeführt.

2.6. Bestimmung von 3-Methoxy- 4-hydroxyphenylglykol im Harn

Die Bestimmungen wurden nach einer von GAERTNER et al. (25) angegebenen Methode im Psychopharmakologischen Labor der Nervenklinik der Universität Tübingen durchgeführt.

2.7. Feststellung des psychopathologischen Befundes

Der Verlauf der Krankheitssymptome während der neuroleptischen Therapie wurde bei zwei Patienten individuell beschrieben und global beurteilt.
Bei einer Patientin erfolgte die Einschätzung mit Hilfe einer speziell für erwachsene und besonders schizophrene Patienten entwickelten Fremdbeurteilungsskala, der Kurzen Psychiatrischen Beurteilungsskala (engl.: Brief Psychiatric Rating Scale, abgekürzt BPRS) nach OVERALL und GORHAM (35). Diese besteht aus insgesamt 18 Symptomenkomplexen, die vom Diagnostiker - anschließend an ein etwa 30-minütiges Gespräch - nach dem Ausprägungsgrad auf einer 7-stufigen Skala eingeschätzt werden können. Der Gesamt-Score (das heißt die Summe aller 18 Punktwerte) eignet sich zur Verlaufsanalyse und kann als Ausmaß der psychischen Gestörtheit interpretiert werden.

3. ERGEBNISSE

3.1. Ergebnisse der Wiedergewinnungsversuche

3.1.1. Wiedergewinnung der Metaboliten im gesamten Analysengang

Wiedergewinnungsversuche wurden mit allen 5 untersuchten Metaboliten durchgeführt. In 350 ml-Harnportionen eines gesunden Probanden wurden unterschiedliche Mengen von jeweils allen 5 Substanzen zugegeben. Um eventuelle Mengenabhängigkeiten der Wiedergewinnungsquoten mitzuerfassen, sollten die in die Leerharnportionen eingesetzten Substanzmengen dem Bereich der bei den mit Perazin behandelten Patienten gemessenen Werte entsprechen.
Die Aufarbeitung erfolgte wie unter 2.3. angegeben.

3.1.1.1. Wiedergewinnung von Per-SO

8 verschiedene Mengen von Per-SO zwischen 1.000 µg und 2.500 µg wurden zu je 350 ml Harn zugesetzt.
Die Wiedergewinnungsraten waren für die eingesetzten Mengen Per-SO gleichbleibend (vgl. Abb. 5). Für den Bereich der im Rahmen der Analyse gemessenen Werte ergab sich keine Abhängigkeit von der Menge zugesetzter Substanz.
Bei der kleinsten eingesetzten Menge von 1.000 µg betrug der wiedergewonnene Anteil bei Mehrfachbestimmungen zwischen 687 µg und 773 µg, was einer Wiedergewinnungsquote von 68,7% bzw. 77,3% entspricht.
Bei größeren zugesetzten Absolutmengen blieb die Wiedergewinnungsrate etwa konstant zwischen 78% bei eingesetzten 1.500 µg und 2.000 µg und 76,4% bei eingesetzten 2.500 µg.

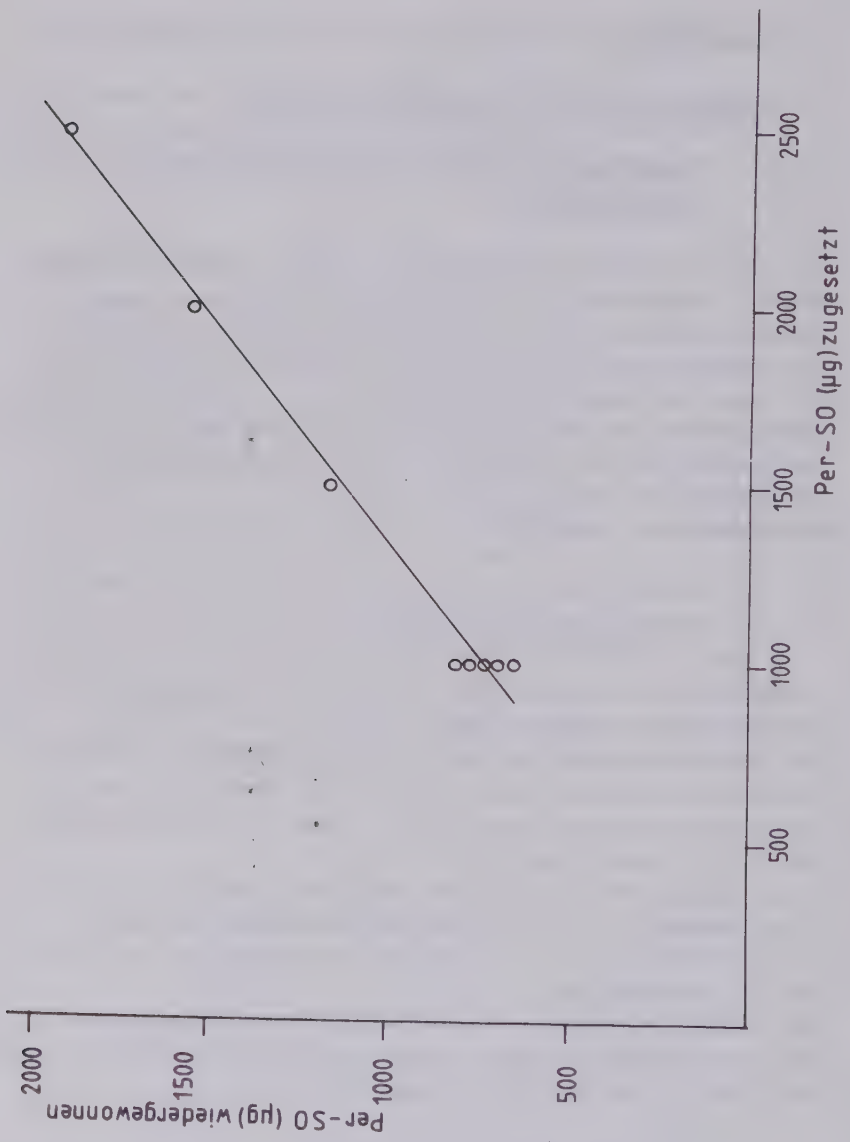

Abb. 5: Wiedergewinnung von Per-SO aus 350 ml Harn im gesamten Analysengang.

3.1.1.2. Wiedergewinnung von DMP-SO

8 verschiedene Mengen von DMP-SO zwischen 300 µg und 1.200 µg wurden zu je 350 ml Harn zugesetzt.
Die Wiedergewinnungsrate für DMP-SO zeigte eine deutliche Abhängigkeit von der dem Harn zugegebenen Absolutmenge (vgl. Abb.6).
Von der kleinsten eingesetzten Menge, 300 µg DMP-SO, wurden bei Mehrfachbestimmungen 32% bis 38% wiedergewonnen.
Nach Zugabe der doppelten Menge, nämlich 600 µg DMP-SO, zeigte sich eine Zunahme des Prozentsatzes der Wiedergewinnung auf 50% bis 62% bei Mehrfachbestimmungen.
Bei noch größeren eingesetzten Absolutmengen konnte die Wiedergewinnungsrate nicht weiter gesteigert werden und blieb bei etwa 60%.

3.1.1.3. Wiedergewinnung von PPMED-SO

8 verschiedene Mengen von PPMED-SO zwischen 6 µg und 288 µg wurden zu je 350 ml Harn zugesetzt.
Die Grenze für quantitative Bestimmungen bei dem angewandten Analyseverfahren lag zwischen 72 µg und 144 µg zugesetzte Substanz pro 350 ml Harnvolumen. (vgl. Abb.7).
Die Meßergebnisse zeigten für den Prozentsatz an wiedergewonnenen Metaboliten eine deutliche Abhängigkeit von der absoluten dem Harn zugesetzten Menge.
Bei der kleinsten quantitativ bestimmbaren Substanzmenge betrug die Wiedergewinnungsrate 20% nach Zugabe von 144 µg PPMED-SO.
Bei größeren eingegebenen Mengen sah man eine Zunahme der Wiedergewinnungsrate bis auf 31% für 288 µg zugegebene Substanz.

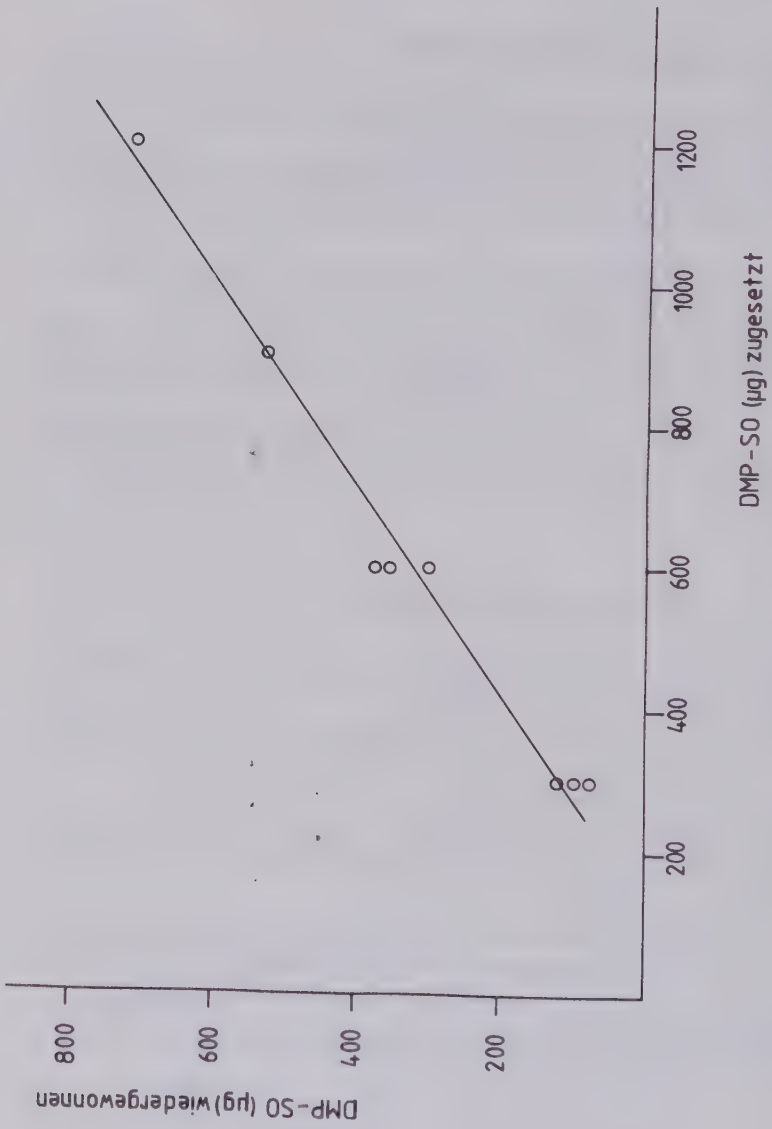

Abb. 6: Wiedergewinnung von DMP-SO aus 350 ml Harn im gesamten Analysengang.

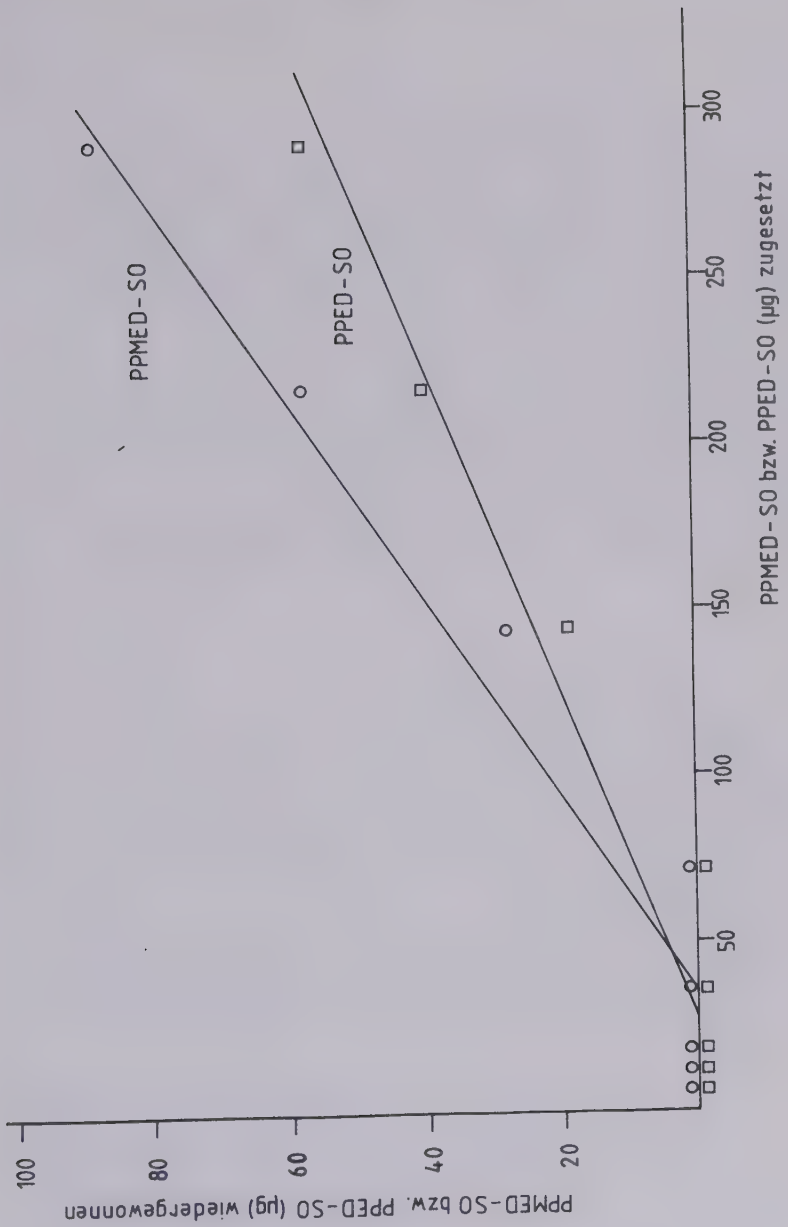

Abb. 7: Wiedergewinnung von PPMED-SO bzw. PPED-SO aus 350 ml Harn im gesamten Analysengang.

3.1.1.4. Wiedergewinnung von PPED-SO

8 verschiedene Mengen von PPED-SO zwischen 6 µg und 288 µg (entsprechend den Mengen von PPMED-SO) wurden zu je 350 ml Harn zugesetzt (vgl. Abb.7). Wie PPMED-SO konnte auch PPED-SO erst ab einer eingesetzten Substanzmenge von 144 µg quantitativ gemessen werden
Die Wiedergewinnungsrate für PPED-SO ist geringer als diejenige für PPMED-SO. Zwar zeigt die Quote der Wiedergewinnung eine Abhängigkeit von der dem Harn zugesetzten Absolutmenge, die prozentuale Steigerung bei größeren Substanzmengen bleibt bei PPED-SO jedoch geringer als bei PPMED-SO.
Von 144 µg eingesetztes PPED-SO wurden 13% wiedergewonnen. Für 216 µg und 288 µg stieg die Wiedergewinnungsrate auf 18% bzw. 17%.

3.1.1.5. Wiedergewinnung von PPA-SO

8 verschiedene Mengen PPA-SO zwischen 20 µg und 360 µg wurden zu je 350 ml Harn zugesetzt (vgl. Abb.8).
Auch für PPA-So wurde eine Abhängigkeit der Wiedergewinnungsrate von der dem Harn zugesetzten Absolutmenge deutlich.
Von der geringsten eingesetzten Menge, 20 µg PPA-SO, konnten 14% wiedergewonnen werden.
Für größere Mengen eingesetzte Substanz konnte eine kontinuierliche Steigerung des Prozentsatzes der Wiedergewinnung bis zu 34% für 360 µg zugesetztes PPA-SO berechnet werden.

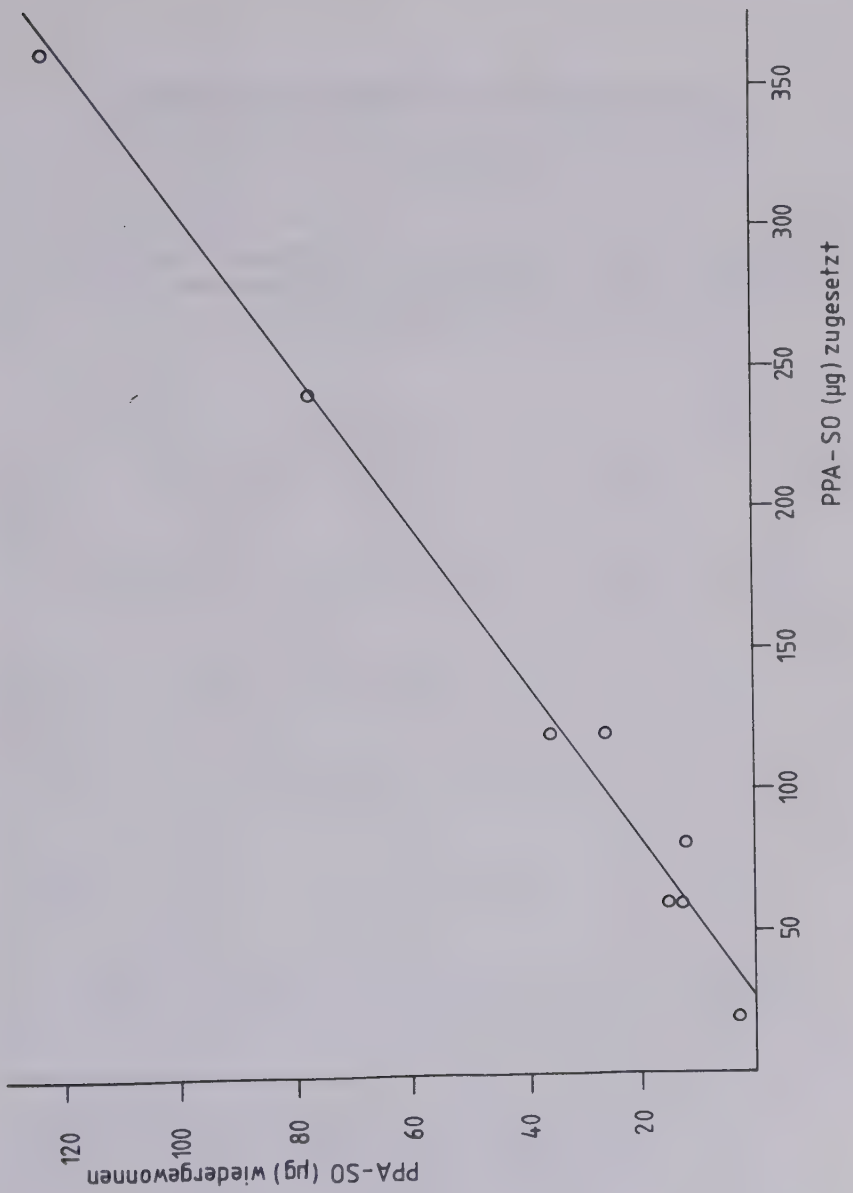

Abb. 8: Wiedergewinnung von PPA-SO aus 350 ml Harn im gesamten Analysengang.

3.1.2. Wiedergewinnung bei einem chromatographischen Einzelschritt

Die Ergebnisse des Temperaturversuchs sind in Tabelle 3 angegeben

Tabelle 3: Wiedergewinnung von Perazin-Metaboliten mit abgebautem Piperazinring beim Eindampfen in Chloroform und anschließender Chromatographie.

Substanz	Eindampf-temperatur (°C)	zugesetzte Menge (µg)	gefundene Menge (µg)	Wiedergewinnung (%)
PPMED-SO	30°	126	105	83
	50°	126	103	82
	30°	253	213	84
	50°	253	219	87
PPED-SO	30°	121	107	88
	50°	121	110	90
	30°	242	223	92
	50°	242	220	91
PPA-SO	30°	51	34	67
	50°	51	31	60

Auf den entsprechenden Chromatogrammen waren keine zusätzlichen Banden als Hinweis auf neuentstandene Substanzen sichtbar.

1.1.5. Bestimmung der Extrahierbarkeit aus saurer und und alkalischer wässriger Lösung

Aus saurer wässriger Lösung wurden die untersuchten Metaboliten nicht in Chloroform extrahiert.
Unter alkalischen Bedingungen wurden folgende Verteilungskoeffizienten zwischen der Chloroform-Phase und der wässrigen Phase ermittelt:

für PPMED-SO	24 :1
für PPED-SO	5,7 :1
für PPA-SO	11,5 :1

1.1. Ausscheidung der Perazin-Metaboliten im Harn von 3 Patienten

Weil auch bei der Überprüfung auf Vollständigkeit der 24-Stunden-Harnsammlungen anhand der Messung der Kreatininausscheidung (siehe 3.3.) bei zwei der drei Patienten zum Teil größere Schwankungen festzustellen waren, die auf inkomplette Sammlung oder nicht genau eingehaltene Sammelperioden zurückgeführt werden mußten, wurde anstatt der Angabe der Meßergebnisse in "µmol im Harn gefundene Substanz pro 24 h" der Quotient "µmol im Harn gefundene Substanz pro 1.000 mg Kreatinin" gebildet. Alle in folgenden gemachten Angaben in µmol sind auf 1.000 mg Kreatinin bezogen.
Eine Angabe der Menge ausgeschiedener Metaboliten in Prozent der Tagesdosis von Perazin erschien deshalb nicht zweckmäßig, weil auch nach Absetzen noch Metabolitenbestimmungen durchgeführt worden sind.
Bei Mehrfachbestimmungen wurden, wenn stärker differierende Werte gemessen wurden waren, die höchsten als wahre Werte angenommen. Bei geringeren Unterschieden wurde der Mittelwert gebildet.
Der Variationskoeffizient bei Doppelbestimmungen betrug für Per-SO 6,2%, für DMP-SO 11,7%, für PPMED-SO 31,6%, für PPED-SO 38,5% und für PPA-SO 25,4%.

3.2.1. Patient M.S.: Ausscheidung der Metaboliten im Harn bei Beginn einer Behandlung mit 300 mg Perazin/die (und zwischenzeitlich 400 mg Perazin/die vom 20. bis 38. Behandlungstag)

Die Meßergebnisse sind in Tabelle 4, der Zeitverlauf in Abbildung 9 wiedergegeben.
7 Tage nach Beginn der Perazin-Behandlung wurden die beiden Metaboliten mit vollständig erhaltenem Piperazinring in relativ großen Mengen von 17 µmol Per-SO und 9 µmol DMP-SO im Harn gefunden. Vom 7. zum 20. Behandlungstag stiegen die Mengen beider Metaboliten in etwa gleichem Ausmaß an.
Der starke Abfall der Mengen beider Metaboliten am 27. Tag nach Behandlungsbeginn ließe sich - bei Ausschluß eines experimentellen Fehlers - mit einer zeitweiligen Nichteinnahme des Medikaments erklären, wofür ebenfalls die Inversion des Konzentrationsverhältnisses Per-SO zu DMP-SO spräche.
Bei Ausklammerung des Intervalls zwischen 20. und 27. Behandlungstag als Zeit einer möglichen eigenmächtigen Therapieaussetzung zeigte sich für Per-SO nach 41 Tagen Behandlungszeit eine Stabilisierung auf einem nach etwa 20 Tagen schon erreichten Ausscheidungs-Niveau mit 26 µmol. Für DMP-SO wurde ein weniger steiler, aber länger anhaltender Konzentrationsanstieg im Harn gemessen, der bis zum 41. Tag anhielt.
Die fast parallel verlaufenden Konzentrationskurven der beiden Ethylendiaminderivate lagen mit Werten von 0,7 µmol für PPMED-SO und 0,9 µmol für PPED-SO nach 7 Behandlungstagen relativ niedrig, um innerhalb des Untersuchungszeitraums langsam und stetig auf Werte von 2,2 für PPMED-SO und 2,3 für PPED-SO am 41. Tag anzusteigen. Der bei den übrigen Metaboliten deutlicher ausgeprägte Konzentrationsabfall am 27. Tag wurde von PPMED-SO und PPED-SO nur in Form einer geringfügigen Erniedrigung der Ausscheidungsmenge im Harn mitvollzogen. Die Menge an ausgeschiedenem PPA-SO betrug nach 7 Tagen mit 2,9 µmol etwa das Dreifache derjenigen von PPMED-SO oder PPED-SO. Abgesehen von dem Einbruch der Ausscheidungskurve am 27. Tag wurde während des 41 Tage dauernden Behandlungszeitraums ein Anstieg auf 8,8 µmol deutlich.

Die endgültige Diagnose für den Patienten M.S. lautete "Psychose aus dem schizophrenen Formenkreis (hebephrene Form)". Aus den Werten der Kreatininausscheidung (Tabelle 7, S.46) ging hervor, daß die Harnsammlungen von dem Patienten mit unterschiedlich großer Sorgfalt durchgeführt worden sein müssen, obwohl er sich während dieser Zeit in stationärer Behandlung befunden hatte. Diese nachgewiesene Unzuverlässigkeit verstärkte den Verdacht einer schlechten Behandlungstreue (compliance) des Patienten und machte die Vermutung der unregelmäßigen Medikamenteneinnahme eher wahrscheinlich.

An unerwünschten Wirkungen traten bei dem Patienten in der zweiten Behandlungswoche Verkrampfungen auf, die als Ausdruck einer Störung des extrapyramidalmotorischen Systems angesehen werden mußten und mit Biperiden (Akineton®) behandelt wurden. Bei den regelmäßig wiederholten Laborkontrollen im Hinblick auf andere unerwünschte, unter der Therapie mit Perazin aufgetretene Wirkungen zeigten sich keine pathologischen Abweichungen.

Tabelle 4: Patient M.S., Ausscheidung der Perazin-Metaboliten pro 24 Stunden

Untersuchungstag	Per-SO	DMP-SO	PPMED-SO	PPED-SO	PPA-SO	Tagesdosis (mg)
	(µmol/1000 mg Kreatinin)					
7. Tag nach Therapiebeginn	17,0	9,7	0,7	0,9	2,9	300
20. Tag nach Therapiebeginn	26,8	12,5	1,2	1,5	4,5	400
27. Tag nach Therapiebeginn	6,8	9,6	1,1	1,2	1,8	400
41. Tag nach Therapiebeginn	26,2	15,4	2,2	2,3	8,8	300

Die zum Beispiel am 41. Tag nach Therapiebeginn im Harn ausgeschiedenen Mengen der Metaboliten entsprechen, umgerechnet auf Prozent der verabreichten Tagesdosis Perazin, 3,0% Per-SO, 1,7% DMP-SO, 0,2% PPMED-SO, 0,3% PPED-SO und 1,0% PPA-SO.

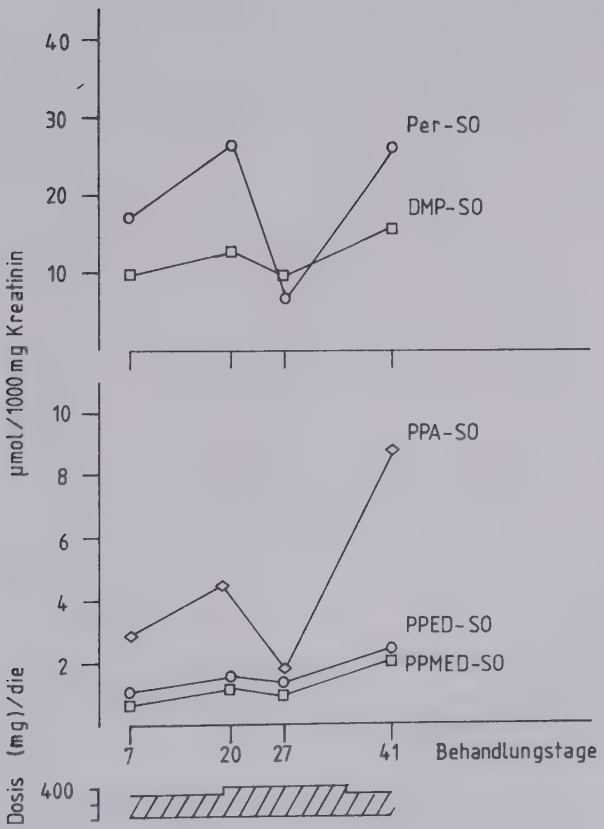

Abb. 9: Patient M.S., Zeitverlauf der Ausscheidung von Perazin-Metaboliten im Harn pro 24 Stunden

3.2.2. Patient A.H.: Ausscheidung der Metaboliten im Harn während einer Behandlung mit 400 mg Perazin/die und nach späterer Dosisreduktion auf 250 mg/die

Die Meßergebnisse sind aus Tabelle 5, der Zeitverlauf aus Abbildung 10 ersichtlich.
Nach einer Behandlungsdauer von etwa einem Monat unter konstant gebliebener Dosis von 400 mg Perazin /die schienen die Ausscheidungen von Per-SO und DMP-SO ein Gleichgewichtsniveau erreicht zu haben, das auch nach einem weiteren Monat am 64. Tag der Behandlung mit 13 µmol für Per-SO und 10 µmol für DMP-SO nachgewiesen werden konnte. Der Verlauf der Ausscheidung der beiden Metaboliten folgte der Reduktion der Tagesdosis auf 250 mg prompt und für Per-SO etwas stärker ausgeprägt als für DMP-SO. Die Per-SO-Ausscheidung schien sich schon 3 Tage nach der Dosisreduktion auf ein neues niedrigeres Gleichgewichtsniveau von etwa 8 µmol eingependelt zu haben. Eine erneute Einstellung der DMP-SO Ausscheidung auf einen konstanten Wert von ungefähr 7 µmol zeichnete sich 14 Tage nach der Reduktion der Tagesdosis ab. Die Bestimmungen der Ausscheidungsmengen von PPMED-SO zwischen 1,9 µmol und 1,6 µmol und von PPED-SO zwischen 3,3 µmol und 1,7 µmol zeigten im Rahmen der Analysengenauigkeit eine relative Konstanz während der Therapie mit 400 mg / die. Nach der Dosisreduktion waren keine deutlichen Veränderungen des Ausscheidungsverhaltens nachweisbar.
Die Ausscheidungsmenge von PPA-SO blieb während der 400 mg-Therapie konstant bei etwa 2 µmol und ließ auch nach der Reduktion der Dosis keine Veränderung erkennen.

Bei dem Patienten A.H. wurde als endgültige Diagnose ein "schweres Zwangsyndrom psychotischer oder neurotischer Genese" festgestellt. Hierzu paßte die Feststellung der (im Vergleich zu den beiden anderen Patienten) konstanten Kreatininausscheidungen pro 24-Stunden-Sammelperiode (vgl. Tabelle 8, S. 47), die auf eine sehr sorgfältige Harnsammlung schließen ließen.

Die nach Einstellung des Gleichgewichts während der Therapie mit einer bestimmten Tagesdosis Perazin relativ gleichbleibenden Meßwerte für die im Harn ausgeschiedenen Metaboliten lassen die Vermutung zu, daß der Patient auch das Therapie-Schema genau eingehalten hatte.

Wenige Tage nach Beginn der Behandlung mit Perazin trat bei dem Patienten als Zeichen einer Störung des extrapyramidalmotorischen Systems ein Tremor der Hände auf, der mit dem ß-Rezeptorenblocker Propranolol behandelt wurde. Die während der Therapie regelmäßig kontrollierten Laborwerte zur Erfassung eventuell auftretender unerwünschter Wirkungen blieben im Normalbereich.

Tabelle 5: Patient A.H., Ausscheidung der Perazin-Metaboliten pro 24 Stunden

Untersuchungstag	Per-SO	DMP-SO	PPMED-SO	PPED-SO	PPA-SO	Tagesdosis (mg)
	(µmol/1000 mg Kreatinin)					
34. Behandlungstag	14,7	9,5	1,9	3,2	2,4	400
64. Behandlungstag	13,2	9,9	1,6	1,7	2,0	400
3. Tag nach Dosisreduktion	8,5	8,0	1,4	1,6	1,9	250
14. Tag nach Dosisreduktion	7,4	5,1	0,9	1,2	1,6	250
21. Tag nach Dosisreduktion	8,3	6,8	1,6	1,9	1,7	250
29. Tag nach Dosisreduktion	8,2	5,9	1,1	1,3	2,2	250

Die zum Beispiel am 29. Tag nach der Dosisreduktion im Harn ausgeschiedenen Mengen der Metaboliten entsprechen, umgerechnet auf Prozent der verabreichten Tagesdosis Perazin, 1,1% Per-SO, 0,8% DMP-SO, 0,1% PPMED-SO, 0,2% PPED-SO und 0,3% PPA-SO.

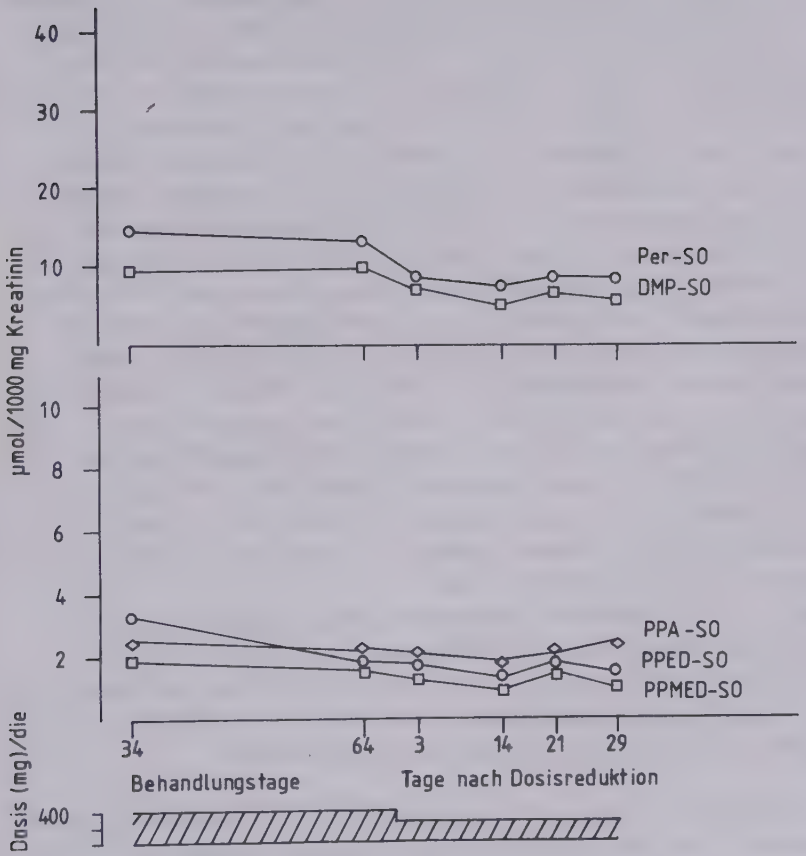

Abb. 10: Patient A.H., Zeitverlauf der Ausscheidung von Perazin-Metaboliten im Harn pro 24 Stunden.

3.2.3. Patientin A.W.: Ausscheidung der Metaboliten im Harn während einer Behandlung mit 400 mg Perazin/die und bis 42 Tage nach Absetzen

Die Meßergebnisse zeigt Tabelle 6, den Zeitverlauf Abbildung 11. Unter einer konstanten Therapie mit 400 mg Perazin /die schwankten die für die Harnausscheidung von Per-SO gemessenen Werte im Zeitraum von der 7. bis zur 11. Behandlungswoche zwischen 38 µmol und 21 µmol: Die Werte der Ausscheidungsmengen von DMP-SO waren zwischen 17 und 8 µmol ähnlich schwankend.
16 Tage nach der einwöchigen ausschleichenden Dosisreduktion auf 100 mg Perazin/die und 9 Tage nach vollständigem Absetzen der Behandlung wurden die beiden Metaboliten nicht mehr im Harn nachgewiesen. Von den Ethylendiaminderivaten PPMED-SO und PPED-SO, deren Ausscheidungsverhalten etwa parallele Änderungen zeigte, konnten bis 21 Tage nach Absetzen der Behandlung quantitativ bestimmbare Mengen im Harn gefunden werden. Während der 400 mg-Behandlung wurden von PPMED-SO Ausscheidungsmengen zwischen 1,2 µmol und 0,5 µmol gemessen, die nach Therapieende progressiv abnahmen. Die ausgeschiedenen Mengen an PPED-SO lagen durchgehend etwas über denjenigen für PPMED-SO und betrugen zwischen 2,4 µmol und 0,9 µmol. Nach Absetzen des Perazins nahmen die Werte im gleichen Verhältnis wie die von PPMED-SO ab.
PPA-SO, dessen gemessene Harnausscheidungsmengen während der konstanten Dauertherapie Schwankungen zwischen 9 µmol und 3 µmol aufwiesen, konnte am längsten, bis 41 Tage nach Absetzen der Perazin-Behandlung in kontinuierlich abfallenden Mengen quantitativ im Harn nachgewiesen werden.

Die endgültige Diagnose für die Patientin A.W. lautete "latente Psychose". Aus den Werten der Kreatininausscheidung pro 24 Std. (siehe Tabelle 9, S.47) wurde eine große Unzuverlässigkeit bei der Harnsammlung deutlich, die auch auf eine unregelmäßige Einnahme der verordneten Medikamente schließen läßt. Möglicherweise waren die relativ großen Schwankungen der Meßwerte für

die im Harn ausgeschiedenen Metaboliten dadurch bedingt.

Die in regelmäßigen Abständen durchgeführten Kontrollen relevanter Laborwerte zur Erkennung eventuell während der Therapie auftretender unerwünschter Wirkungen zeigten nach 10-wöchiger Behandlungsdauer geringgradig erhöhte Werte der Transaminasen GOT und GPT als Ausdruck einer Leberparenchymschädigung. Die übrigen Laborwerte waren unauffällig.

Tabelle 6: Patientin A.W., Ausscheidung der Perazin-Metaboliten pro 24 Stunden

Untersuchungstag	Per-SO	DMP-SO	PPMED-SO	PPED-SO	PPA-SO	Tagesdosis (mg)
	(µmol/1000 mg Kreatinin)					
47. Behandlungstag	37,9	16,7	1,2	2,4	8,9	400
61. Behandlungstag	21,2	8,0	0,8	1,2	3,4	400
67. Behandlungstag	22,6	7,7	0,5	0,9	4,2	400
76. Behandlungstag	37,7	13,0	0,7	2,3	7,2	400
9. Tag nach Absetzen	–	-	0,3	0,3	2,3	-
21. Tag nach Absetzen	–	–	0,3	0,3	1,5	-
38. Tag nach Absetzen	–	-	-	-	0,7	-
42. Tag nach Absetzen	-	-	-	-	0,4	-

Die zum Beispiel am 47. Behandlungstag im Harn ausgeschiedenen Mengen der Metaboliten entsprechen, umgerechnet auf Prozent der verabreichten Tagesdosis Perazin, 3,2% Per-SO, 1,4% DMP-SO, 0,1% PPMED-SO, 0,2% PPED-SO und 0,8% PPA-SO.

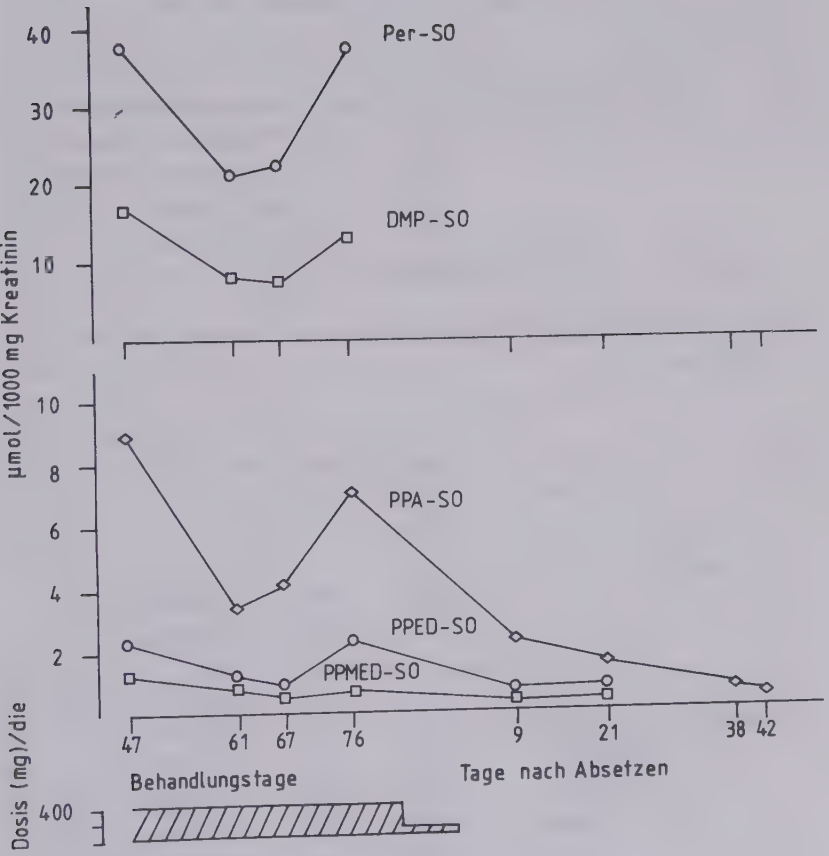

Abb. 11: Patientin A.W., Zeitverlauf der Ausscheidung von Perazin-Metaboliten im Harn pro 24 Stunden.

3.3. Ergebnisse der Kreatinin-Bestimmung

Die Meßergebnisse der 3 Patienten sind aus den Tabellen 7-9 ersichtlich.
Die laborinternen Normwerte für die Kreatinin-Ausscheidung vollständiger 24 Stunden-Urine wurden mit 587 mg Kreatinin für Frauen und 1142 mg Kreatinin für Männer als untere Grenzwerte angegeben.
Weil das Kriterium der Vollständigkeit nicht bei allen Harnsammlungen erfüllt war, wurden die gemessenen Perazin-Metabolitenausscheidungen grundsätzlich auf 1.000 mg Kreatinin bezogen.

3.4. Ergebnisse der MHPG-Bestimmung

Die Meßergebnisse sind für die 3 Patienten in den Tabellen 7-9 angegeben.

Tabelle 7: Patient M.S., Ausscheidung von Kreatinin und MHPG pro 24 Stunden im Harn

	Kreatinin (mg)	MHPG (µg)	MHPG / Kreatinin
7. Tag n. Therapiebeg.	1370	2520	1,8
20. Tag n. Therapiebeg.	730	2050	2,8
27. Tag n. Therapiebeg.	1600	2800	1,8
41. Tag n. Therapiebeg.	780	950	1,2

Tabelle 8: Patient A.H., Ausscheidung von Kreatinin und MHPG pro 24 Stunden im Harn

	Kreatinin (mg)	MHPG (µg)	MHPG / Kreatinin
34. Behandlungstag	1120	2830	2,5
64. Behandlungstag	1090	2240	2,1
3. Tag n. Dosisreduktion	1140	2890	2,5
14. Tag n. Dosisreduktion	1180	2950	2,5
21. Tag n. Dososireduktion	950	2460	2,6
29. Tag n. Dosisreduktion	1110	2660	2,4

Tabelle 9: Patientin A.W., Ausscheidung von Kreatinin und MHPG pro 24 Stunden im Harn

	Kreatinin (mg)	MHPG (µg)	MHPG / Kreatinin
47. Behandlungstag	1010	1360	1,4
61. Behandlungstag	650	870	1,3
67. Behandlungstag	1170	1940	1,7
76. Behandlungstag	1260	1870	1,5
9. Tag n. Absetzen	1070	1570	1,5
21. Tag n. Absetzen	1130	1840	1,7
38. Tag n. Absetzen	fehlt	fehlt	
42. Tag n. Absetzen	740	1080	1,5

3.5. Psychopathologische Befunde

3.5.1. Patient M.S., globale Beurteilung durch den behandelnden Stationsarzt:

"Unter der neuroleptischen Therapie mit Taxilan® lockerte sich sein Befinden, er konnte sich von seinen Wahnideen und Ängsten distanzieren. Die Arbeit mit ihm war jetzt gut möglich, er konnte aus seinem psychotischen Erleben berichten. Er nahm an den ihm angebotenen Aktivitäten auf der Station teil, arbeitete aktiv in der Einzeltherapie mit."

3.5.2. Patient A.H., globale Beruteilung durch den behandelnden Stationsarzt:

"Im Verlauf von Monaten stellte sich schließlich eine nachhaltige Besserung in seinem Befinden ein. Er konnte wieder nach Hause und dort aktiv mitarbeiten. Er nahm sein Studium wieder auf. Die Zwangsgedanken traten in den Hintergrund."

3.5.3. Patientin A.W., Ergebnisse der Auswertung der BPRS

Die Ergebnisse der Auswertung der BPRS sind in Tabelle 10 angegeben.

Tabelle 10: Psychopathologische Befunde laut Score auf der BPRS-Skala während und nach der Behandlung von Patientin A.W. mit Perazin.

Untersuchungstag	Gesamt-Score	Tagesdosis (mg)
47. Behandlungstag	50	400
56. Behandlunstag	46	400
70. Behandlungstag	49	400
8. Tag nach Absetzen	38	-
21. Tag nach Absetzen	26	-
30. Tag nach Absetzen	22	-
38. Tag nach Absetzen	21	-
44. Tag nach Absetzen	25	-

4. DISKUSSION

4.1. Beurteilung der Methode

Die Wiedergewinnungsversuche zeigten für die 5 untersuchten Perazin-Metaboliten sowohl hinsichtlich der wiedergewonnenen Absolutmengen als auch im Hinblick auf die Abhängigkeit des Prozentsatzes der Wiedergewinnung von der Menge der eingesetzten Substanz sehr unterschiedliche Ergebnisse.
Die relativ hohe Wiedergewinnungsquote für Per-SO blieb im Bereich der eingesetzten Substanzenmengen konstant zwischen 69% und 77%. Dies könnte einerseits auf die im Vergleich mit den übrigen Metaboliten hohen Absolutmengen von 1000 µg bis 2500 µg zurückgeführt werden, andererseits auch auf den Charakter als ditertiäres Amin, das chemisch weniger leicht angreifbar ist als sekundäre und primäre Amine, wie sie bei den anderen Metaboliten vorliegen.
Die Wiedergewinnungsrate für DMP-SO erwies sich als deutlich mengenabhängig. Sie war für die größten eingesetzten Mengen DMP-SO von 900 µg und 1200 µg etwa 10% schlechter als die entsprechenden Quoten für dieselben zugesetzen Mengen Per-SO.
Der Prozentsatz der Wiedergewinnung und die gute Reproduzierbarkeit bei Mehrfachbestimmungen zeigten, daß die Aufarbeitungsmethode für die Bestimmung von Per-SO und DMP-SO geeignet war.

Aus der niedrigen und konzentrationsabhängigen Wiedergewinnungsrate sowie der Möglichkeit der quantitativen Bestimmung erst ab 144 µg Substanz pro 350 ml Harnvolumen wurden die hohen Verluste für PPMED-SO und PPED-SO während des gesamten Analysenganges ersichtlich.
Für PPA-SO lag die konzentrationsabhängige Wiedergewinnungsquote zwar ebenfalls niedrig (zwischen 14% und 34%), doch angesichts der Möglichkeit eines quantitativen Nachweises schon ab 20 µg Subtanz in 350 ml Harnvolumen schien dafür eher die geringe Absolutmenge an zugesetzter Substanz verantwortlich zu sein.
Bei der Suche nach möglichen Ursachen für die großen Verlust-

raten von PPMED-SO, PPED-SO und PPA-SO während des gesamten Analysengangs mußte festgestellt werden, ob Chloroform als Extraktionsmittel für diese drei Metaboliten geeignet war: Legt man die experimentell ermittelten Verteilungskoeffizienten zugrunde, so wurden (unter der Annahme, man hätte das Chloroform völlig abgetrennt) nach zweimaliger Extraktion im gleichen Volumen Chloroform aus einer wässrigen Lösung im alkalischen Milieu 99,8% PPMED-SO, 97,8% PPED-SO und 99,4% PPA-SO gewonnen. Die Extraktion mit Chloroform war demnach praktisch vollständig.

In neuerer Zeit wird die Verwendung von Chloroform als Extraktionsmittel für unpolare Substanzen jedoch in Frage gestellt: WESTER et al. (44) berichteten 1981 über Carbamat-Derivate, die nach Extraktion von trizyklischen Antidepressiva mit unstabilisiertem Chloroform entstanden waren. 1982 beschrieben CONE et al. (15) Artefaktbildungen, die auf die Reaktionen von Verunreinigungen in destilliertem Chloroform mit sekundären Aminen zurückgeführt werden konnten. Aus reinem Chloroform entsteht an Licht, Luft oder Feuchtigkeit Phosgen. Wenn dem Chloroform zur Stabilisierung 0,5-1% Ethanol zugesetzt wird, so kann dadurch zwar der Zerfall des Chloroforms verzögert werden, es kommt jedoch auch zur Bildung von Ethylchloroformat. Mit primären und sekundären Aminen bildet Phosgen Carbamylchloride, Ethylchloroformat reagiert unter Bildung von Carbamaten.

Wenn die Artefaktbildung mit Chloroform für den Substanzverlust von PPMED-SO, PPED-SO und PPA-SO während des Aufarbeitungsprozesses verantwortlich gewesen wäre, hätte die Wiedergewinnungsquote nach einem Einzelschritt beim Eindampfen des Chloroforms bei höherer Temperatur niedriger ausfallen müssen als bei tieferer Temperatur, was jedoch im Temperaturversuch (3.1.2.) nicht der Fall war.

Gegen die Hypothese einer Artefaktbildung spricht außerdem die Tatsache, daß auf den Chromatogrammen keine höher laufenden Banden als Anhalt für zusätzlich gebildete Substanzen sichtbar waren.

Als Ursache für die mangelnde Stabilität der Perazin-Metaboliten

mit teilweisem oder vollständigem Abbau des Piperazinrings kommt auch ein Verlust der Substanzen im Kieselgel in Frage: Möglicherweise gibt es reaktive Stellen am Kieselgel, die die Substanzen binden (eventuell über Wasserstoffbrücken).

Die Verwendung von Chloroform wechselnder Reinheit (z.B. Lichteinfluß) kann von Bedeutung sein bei differierenden Mehrfachbestimmungen.

Als weitere einschränkende Faktoren bei der Diskussion der in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnisse sind die Probleme zu nennnen, die sich bei einer Studie mit Patienten ergeben: Die Anzahl der untersuchten Fälle war mit 3 Patienten klein; es bestand keine absolute Sicherheit darüber, ob die Patienten regelmäßig ihre Tagesdosis Perazin eingenommen hatten; die teilweise recht langen und unregelmäßigen Intervalle zwischen den einzelnen Harnsammelperioden ermöglichten bei den zum Teil auch ambulant behandelten Patienten nur eine großzügig überbrückende Verlaufsaussage.

4.2. Beurteilung der Ergebnisse

4.2.1. Patient M.S.: Ausscheidung der Metaboliten im Harn bei Beginn einer Behandlung mit 300 mg Perazin/ die (zwischenzeitlich 400 mg/die.

Bei Beginn einer Therapie mit Perazin stellt sich für das hydrophile Sulfoxid des sonst unveränderten Medikaments, das Per-SO, nach (spätestens) 3 Wochen und somit am schnellsten ein Gleichgewichtszustand ein. Das dann erreichte Niveau der Auscheidungsmenge von Per-SO im Harn beträgt 154% des 7 Tage nach Behandlungsbeginn gemessenen Wertes.

Die Ausscheidungsmenge von DMP-SO im Harn steigt zwar weniger steil als die von Per-SO, sie nimmt jedoch über den gesamten fünfwöchigen Beobachtungszeitraum zu und erreicht nach 42 Behand-

lungstagen 159% des am 7. Behandlungstag festgestellten Wertes.

Die Demethylierungsrate, berechnet als Verhältnis der Ausscheidungsmengen des Demethylierungsproduktes DMP-SO, und des Sulfoxids des unveränderten Perazins, Per-SO, bleibt - unter Berücksichtigung der Analysengenauigkeit - mit einem Wert von 0,57 nach einer Woche und 0,59 nach 5 Wochen nahezu konstant.

Geht man davon aus, daß zwischen dem 20. und 27. Behandlungstag kurzfristig vom Patienten das Medikament nicht eingenommen wurde, so läßt sich an dem stärkeren Abfall der Harnausscheidung von Per-SO im Vergleich zu DMP-SO ablesen, daß die biologische Halbwertszeit des Perazins kürzer sein muß als diejenige von DMP.

Für die beiden partiellen Ringspaltungsprodukte PPMED-SO und PPED-SO zeigt sich innerhalb der fünfwöchigen Beobachtungszeit eine deutliche und kontinuierliche Steigerung der im Harn ausgeschiedenen Mengen auf 287% bei PPMED-SO und 260% bei PPED-SO, (verglichen mit dem Ausgangswert nach 7 Tagen Behandlungszeit).

Die Ausscheidungskinetik läßt darauf schließen, daß die beiden sulfidischen Ethylendiaminderivate nach ihrer Bildung in der Leber und dem Transport via Blutkreislauf vorwiegend in Gewebespeicher aufgenommen werden (6) und nur in geringem Maße nach der Biotransformation zu Sulfoxiden renal eliminiert werden. Im Verlauf der zeit- und dosisabhängigen Akkumulation von PPMED und PPED in peripheren Gewebskompartimenten während der Therapie kommt es zur Einstellung eines Gleichgewichtszustandes mit langsam ansteigendem Niveau. Infolge der Rückdiffusion aus den Gewebsspeichern ins Blut steigt auch der (absolut gesehen sehr niedrige) Blutspiegel der Metaboliten an. Deshalb erscheinen im Patientenharn dann zunehmende Mengen von PPMED-SO und PPED-SO. Die Hypothese, daß die beiden im Harn gefundenen Sulfoxide aus PPMED und PPED stammen, die im Gewebe akkumuliert wurden, wird gestützt durch die Beobachtung der relativen Unabhängigkeit ihres Ausscheidungsverhaltens während der vermuteten kurzfristigen Therapieaussetzung: Wenn die Bildung

von PPMED-SO und PPED-SO nicht direkt von der Perazin-Einnahme, sondern von der Menge an gespeichertem PPMED und PPED abhängt, dann darf die im Harn ausgeschiedene Menge der Sulfoxide nicht direkt durch Unregelmäßigkeiten der Arzneimitteleinnahme beeinflußt werden. Auch bei PPA-SO kommt es (wie bei den Ethylendiaminderivaten) innerhalb von 5 Wochen nach Therapiebeginn zu einer Steigerung der im Harn ausgeschiedenen Menge um das Dreifache (303%) im Vergleich mit dem nach einer Woche festgestellten Ausgangswert. Auffällig ist der starke Abfall der am 27. Behandlungstag gemessenen Ausscheidungsmenge auf 40% des am 20. Behandlungstag gemessenen Wertes. Nur für Per-SO war während dieser Zeit der mutmaßlichen Nichteinnahme von Perazin die Verminderung der Ausscheidungsmenge mit 25% des vorausgegangenen Wertes noch ausgeprägter.
Mit der Verringerung der Ausscheidung von PPA-SO am 27. Behandlungstag ändert sich auch das Verhältnis der Summe der PPMED-SO und PPED-SO-Mengen zur Menge des ausgeschiedenen PPA-SO: Vorher beträgt der Quotient - wie auch nach 41 Behandlungstagen wieder - etwa 0,5, zwischenzeitlich steigt er auf etwa 1 an. Möglicherweise kann PPA, das nach Biotransformation als hydrophiles Sulfoxid renal ausgeschieden wird, über verschiedene Wege und aus unterschiedlichen direkten Vorläufern gebildet werden. Außer der Entstehung von PPA durch vollständigen Abbau des Piperazinrings via PPMED bzw. PPED entweder in bestimmten peripheren Geweben oder nach Rückstrom in die Leber könnte auch eine direkte Bildung des PPA aus Perazin oder DMP eine Rolle spielen.
Beim Studium des Zeitverlaufs der Harnausscheidung der 5 untersuchten Perazin-Metaboliten nach Beginn einer Therapie wird deutlich, daß diejenigen Substanzen (PPMED-SO, PPED-SO und PPA-SO), für deren biochemische Vorstufen eine Akkumulation im Gewebe angenommen wird, zunächst in relativ geringen Mengen renal ausgeschieden werden. Während der Behandlung war gerade bei diesen Substanzen eine über den gesamten Untersuchungszeitraum anhaltende Steigerung der Harnausscheidungsmenge auf das Zwei- bis Dreifache des Ausgangswertes festzustellen. Dagegen konnten Per-SO und DMP-SO in relativ großen Mengen im Harn nachgewiesen werden, die Steigerung der Harnausscheidung während der Therapie fiel jedoch viel geringer aus.

4.2.2. Patient A.H.: Ausscheidung der Metaboliten im Harn während einer Behandlung mit 400 mg Perazin/die und nach Dosisreduktion auf 250 mg Perazin/die

Aus dem Zeitverlauf der Harnausscheidung von Perazin-Metaboliten bei chronischer Behandlung mit gleichbleibender Dosis geht hervor, daß sich bei (vermutlich) exakter Einhaltung des vorgegebenen Therapieschemas intraindividuell im Rahmen der Meßgenauigkeit konstante Gleichgewichtszustände einstellen. Bei dem Patienten A.H. scheint dieser Gleichgewichtszustand nach einer Behandlungsdauer von 5 Wochen für alle 5 untersuchten Metaboliten vorzuliegen. Innerhalb der 5. bis 9. Behandlungswoche erfolgt ein leichter Anstieg der Demethylierungsrate von 0,65 auf 0,75. Nach einer Dosisreduktion von 400 mg Perazin/die auf 250 mg /die (entsprechend 62,5% der ursprünglichen Dosis) stellt sich für Per-SO innerhalb von nur 3 Tagen ein neuer Gleichgewichtszustand ein auf einem niedrigeren Niveau, das 57% der vorher gemessenen Ausscheidungsmenge beträgt.

Die längere biologische Halbwertszeit von DMP im Organismus kommt unter der Bedingung der Dosisreduktion - spiegelverkehrt zu den Verhältnissen bei Beginn einer Behandlung, vgl. 4.2.1. - in einer gegenüber Per-SO länger auf einem höheren Niveau anhaltenden und langsamer abfallenden Ausscheidungsmenge von DMP-SO zum Ausdruck. Innerhalb von 2 Wochen nach der Reduktion auf 250 mg Perazin/die hat sich die DMP-SO-Ausscheidung auf ein neues Ausscheidungsniveau von 61% der unter der 400 mg-Tagesdosis gemessenen Werte eingependelt. Aus der unterschiedlichen Ausscheidungskinetik von Per-SO und DMP-SO nach Dosisreduktion resultiert auch eine deutliche Veränderung der Demethylierungsrate: 3 Tage nach der Reduktion der Tagesdosis steigt der Quotient auf 0,94 an, um nach 2 Wochen wieder auf 0,69 abzufallen.

Die Harnausscheidung von PPMED-SO, PPED-SO und PPA-SO wird in den ersten 4 Wochen nach der Dosisreduktion (unter Berück-

sichtigung der Analysengenauigkeit) nicht beeinflußt. Die Beobachtung einer konstant bleibenden Harnausscheidung dieser Metaboliten, nachdem die Tagesosis auf 62,5% der ursprünglichen 400 mg reduziert wurde, stimmt überein mit der Annahme der Speicherung von PPMED und PPED in peripheren Geweben, aus denen sie durch Diffusion langsam wieder freigegeben und via Blut in geringer Konzentration und über lange Zeit rückverteilt werden.

4.2.3. Patientin A.W.: Ausscheidung der Metaboliten im Harn während einer 11 Wochen dauernden Behandlung mit 400 mg Perazin / die und bis 42 Tage nach Absetzen.

Die schwankenden Werte für die Ausscheidung der 5 Harnmetaboliten während eines Zeitraums, in dem ein gleichbleibendes Therapie-Schema vorgeschrieben war, und die unregelmäßigen Intervalle zwischen den einzelnen Harnsammelperioden lassen eine detaillierte Analyse der Ausscheidungskinetik der Metaboliten nach Absetzen der Therapie leider nicht zu.
Es wird jedoch deutlich, daß PPMED-SO und PPED-SO nach der Reduktion der Dosis und schließlich nach vollständigem Absetzen des Perazins in kontinuierlich abnehmenden Mengen noch über 3 Wochen lang quantitativ nachweisbar sind. Die ebenfalls stetig abfallende PPA-SO-Ausscheidung blieb 6 Wochen lang quantitativ bestimmbar.
Aus diesen Befunden läßt sich schließen, daß PPA aus dem PPMED und dem PPED der peripheren Gewebsspeicher entsteht. Solange PPA-SO im Harn nachweisbar ist, können die Speicher für PPMED und PPED nicht vollständig entleert sein. Die Tatsache, daß später als 21 Tage nach Absetzen nur noch PPA-SO, aber kein PPMED-SO und PPED-SO mehr nachgewiesen werden konnten, ist kein Gegenargument, sondern zeigt nur die Grenzen der angewandten Analysenmethode.

4.3. Vergleich der gefundenen Ergebnisse mit den Daten der Literatur

Prinzipiell sind kinetische Studien über Arzneimittel in vivo beim Tier und beim Menschen möglich. Während im Tierversuch Analysen sowohl der Gewebe als auch der Körperausscheidungen durchführbar sind, bleiben die Untersuchungen beim Menschen - ausgenommen eine Arbeit mit autoptischem Material - auf die Bestimmung der Metabolitenausscheidung, hauptsächlich im Harn, beschränkt.
In der vorliegenden Arbeit wurden erstmals bei 3 psychiatrischen Patienten 5 Harnmetaboliten des Phenothiazinderivats Perazin quantitativ über längere Zeiträume bestimmt und die Meßergebnisse durch die experimentell ermittelten jeweiligen Wiedergewinnungsraten korrigiert.
Die unter verschiedenartigen Therapiebedingungen (Beginn einer Behandlung; eingestellter Gleichgewichtszustand; Dosisreduktion; Absetzen des Medikaments) gefundenen Muster der Harnmetabolitenausscheidung werden im folgenden den bisherigen Befunden beim Tier und beim Menschen aus der Literatur gegenübergestellt. Besonders soll das Phänomen der Akkumulation einiger dieser Metaboliten während einer chronischen Behandlung berücksichtigt werden. Die Frage nach der pharmakodynamischen Bedeutung und damit der klinischen Relevanz einer Speicherung von bestimmten Phenothiazinmetaboliten in manchen Geweben des Organismus wird in Punkt 4.5. diskutiert.
Die Tierversuche zur Kinetik der Gewebemetaboliten des Perazins wurden zumeist an Ratten durchgeführt: Nach chronischer Gabe von Perazin in solchen Mengen, die den üblichen Tagesdosen von 250 mg - 600 mg Perazin für psychiatrische Patienten entsprechen, fand BREYER (6) als Hauptmetaboliten in verschiedenen Rattengeweben (Leber, Lunge, Niere, Milz, Gehirn) PPED. Bei Analysen nach verschiedenen Applikationsschemata ließ sich eine deutliche zeit- und dosisabhängige, für die einzelnen parenchymatösen Organe jeweils charakteristische Akkumulation des PPED zeigen. Die Leber wurde als wahrscheinlich einziger Bildungsort für PPED vorgeschlagen aufgrund der Erkenntnis, daß schon 2 Stunden

nach Gabe einer Einzeldosis Perazin das Ethylendiaminderivat ausschließlich dort nachweisbar war.
Wie aus dem Experiment nach Gabe des Demethylierungsproduktes von Perazin an Ratten hervorging, wird PPED via DMP gebildet. Das unterschiedliche Verhalten der Gewebekonzentrationen von DMP und PPED in mehreren Organen nach Langzeitgabe ansteigender Perazindosen sowie die Diskrepanz des Eliminationsverhaltens nach Absetzen (kürzere Halbwertszeit des DMP) liessen den Schluß zu, daß die Akkummulation von PPED kein Epiphänomen einer primären DMP-Speicherung ist, sondern bedingt durch die pharmakokinetischen Eigenschaften des Ethylendiaminderivats PPED selbst.
Aus dem Vergleich der für die einzelnen Gewebe unterschiedlichen Elimination des PPED (am schnellsten aus hepatischem Gewebe) ergab sich, daß die Leber auch das Hauptorgan für den Abbau des PPED ist. Wenn PPED nicht unverändert mit dem Blut abtransportiert wird, dann erfolgt entweder in den Hepatozyten der weitere Abbau oder, nach Biotransformation, die Ausscheidung mit der Galle in den Darm oder in das Blut.
Bei der Untersuchung subzellulärer Fraktionen des Leberhomogenats von mit Perazin behandelten Ratten wurde eine ausgesprochen hohe Konzentration von PPED in der Mitochondrienfraktion gefunden; die Affinität des PPED zu löslichem Protein war dagegen sehr gering. Geht man davon aus, daß die Affinität des PPED zu den plasmatischen Transportproteinen ähnlich niedrig ist wie die zum löslichen Leberprotein, so läßt sich erklären, daß im Gleichgewicht die Plasmakonzentration von PPED sehr gering ist und der Transport des Metaboliten via Blutkreislauf langsamer als seine Neubildung in der Leber erfolgt. Somit hinkt die Akkumulation des PPED in den peripheren Geweben der Synthese etwas nach. Andererseits wird die Beobachtung verständlich, daß nach Absetzen von Perazin die Elimination von PPED in der Lunge, der Niere, der Milz und dem Gehirn von Ratten viel langsamer abläuft als in der Leber, weil nur in dieser auch ein weiterer metabolischer Abbau erfolgen kann und die Rückdiffusion aus den übrigen peripheren Geweben durch die niedrige Transportkapazität des Plasmas beschränkt bleibt (6).

Auch in verschiedenen Organen der Maus und des Kaninchens wurde PPED entweder als einziger oder als Hauptmetabolit nach chronischer Perazin-Gabe bestimmt, wobei jedoch quantitativ unterschiedliche Verhältnisse bei den einzelnen Spezies für die Perazin-Metaboliten festgestellt wurden.
BREYER und GAERTNER (8) gaben das Verhältnis der beiden dem Perazin und DMP entsprechenden Ethylendiaminderivate PPMED und PPED im Rattengewebe nach Langzeitbehandlung mit Perazin mit 1:9 an, beim Kaninchen betrug das Verhältnis fast 1:1.
Die dem PPED entsprechenden Ethylendiaminderivate wurden von BREYER und GAERTNER auch nach Langzeitverabreichung der Piperazinring-substituierten Phenothiazinderivate Prochlorperazin, Perphenazin, Trifluoperazin und Fluphenazin in verschiedenen Rattengeweben gefunden. Hierbei ließ sich ebenfalls eine verzögerte Elimination der Ethylendiaminderivate im Vergleich zur Kinetik der unveränderten Medikamente bzw. der Dealkylierungsprodukte - analog dem Verhalten des PPED nach Absetzen von Perazin - nachweisen.
Der Beweis für die Konvergenz der Stoffwechselwege von Dimethylamino-substituierten und Piperazin-substituierten Phenothiazinderivaten in vivo ist BREYER, GAERTNER und PROX (9) dadurch gelungen, daß sie in der Rattenleber sowohl nach Behandlung mit Chlorpromazin als auch nach Gabe von Prochlorperazin das primäre Amin Cl-PPA nachweisen konnten. Daß die für Perazin gefundenen Stoffwechselwege in qualitativer Hinsicht auch auf andere Piperazinring-substituierte Phenothiazinderivate übertragbar sind, wurde von BREYER et al. (13) durch massenspektrometrische Aufklärung und chemische Synthese der Gewebemetaboliten von Trifluoperazin, Fluphenazin, Prochlorperazin und Perphenazin gesichert: Außer den unveränderten Substanzen und deren N-terminale Dealkylierungsprodukte wurden als Ringspaltungsprodukte die symmetrischen disubstituierten sowie die monosubstituierten Ethylendiaminderivate im Rattengewebe nachgewiesen.
In einer Studie über die Kinetik der Gewebemetaboliten dieser 4 Phenothiazinderivate mit Piperazinring-Substitution bei Ratten und bei Hunden konnten GAERTNER et al. (24) ein schon aus dem

Perazin-Stoffwechsel bekanntes Verhalten bestätigen: Nach Absetzen der Phenothiazingaben verlief die Elimination der Ethylendiaminderivate langsamer als die der unveränderten Substanzen beziehungsweise der Demethylierungsprodukte mit vollständigem Piperazinring. Wenn höhere Dosen verabreicht worden waren, fanden sich auch geringe Mengen der vollständigen Ringabbauprodukte als primäre Amine.
Um den Einfluß von Substituenten am trizyklischen aromatischen Kern der Phenothiazine beurteilen zu können, wurden die Gewebespiegel der einzelnen Metaboliten bei gleichen Dosierungsschemata für die 4 Phenothiazinderivate bestimmt. Dabei zeigten sich für die einzelnen Substanzen (sowohl bei den Metaboliten mit vollständigem Piperazinring als auch bei denen mit der Ethylendiamingruppe aus dem partiellen Ringabbau) charakteristische Verhältnisse der N-dealkylierten zu den nicht-dealkylierten Produkten. Der Anteil der monosubstituierten Ethylendiaminderivate (somit die Dealkylierung) im Vergleich zu den disubstituierten Ethylendiaminderivaten nahm in der Reihenfolge Perazin (fast ausschließlich PPED), Prochlorperazin (etwa 3:1), Trifluoperazin (etwa 2:1), Fluphenazin (etwa 2:3) und Perphenazin (etwa 1:2) ab. Auch die Gewebekonzentration der jeweiligen Phenothiazinylpropylamine variierte bei den einzelnen Substanzen erheblich.
Übereinstimmend mit der Beobachtung für Perazin wurden auch für die 4 genannten Phenothiazinderivate nach chronischer Gabe eine raschere Elimination der Ethylendiaminderivate aus der Leber im Vergleich zur Elimination z.B. aus der Niere gefunden.
Auffallend war bei den Studien der Gewebemetaboliten der Phenothiazine das kinetische Verhalten der Ethylendiaminderivate im Hirngewebe. JAHNS und BREYER (28) wiesen durch Messung von Zeitverläufen der Cl-PPED-Konzentrationen in verschiedenen Geweben nach, daß das Gehirn die Kriterien eines "tiefen Kompartiments" mit verspäteter Aufnahme und verzögerter Abgabe von akkumulierenden Metaboliten erfüllt: Nach oraler Gabe einer Einzeldosis Cl-PPED an Ratten wurden die Gewebespiegel in einigen Organen verfolgt. Während die Cl-PPED-Konzentration in Leber und Niere

nach 12 Stunden, in der Lunge nach 24 Stunden ihr Maximum erreicht hatte, war dies im Gehirn erst nach 48 Stunden der Fall. Auch anhand der Eliminationshalbwertszeiten von Cl-PPED wurde der Unterschied zwischen den peripheren Geweben (Leber: 1,6 Tage; Niere: 2 Tage; Lunge: 3 Tage) und dem Gehirn (8 Tage) deutlich.

Bei Tierversuchen zur Kinetik der Harnmetaboliten bei der Ratte nach Absetzen einer Perazin-Dauerbehandlung stellten BREYER und GAERTNER (8) ein synchrones Verhalten der sulfidischen unveränderten Substanzen bzw. ihres Demethylierungsproduktes DMP im Gewebe und den beiden entsprechenden sulfoxidischen Metaboliten im Harn fest: Wie Perazin aus dem Gewebe, wurde Per-SO mit dem Harn innerhalb eines Tages nach Absetzen der Behandlung vollständig ausgeschieden; analog zu DMP, das nur in den ersten 2 Tagen nach Gabe der letzen Perazindosis im Gewebe nachweisbar war, konnte DMP-SO ebenfalls nur innerhalb dieser Zeit im Harn gefunden werden. Zu einer Zeit, als sich im Rattengewebe nach Beendigung der chronischen Perazin-Gabe nur noch PPED befand, wurde im Harn PPA-SO gefunden. Durch Verabreichung des Intermediärprodukts PPED an die Ratte anstatt des unveränderten Phenothiazins und darauffolgenden Nachweis von PPA-SO im Harn konnte bestätigt werden, daß PPA-SO durch Abbau des sulfidischen Ethylendiaminderivats entsteht. Später konnten BREYER et al. (9) mit Hilfe der Massenspektrometrie und Dünnschichtchromatographie bei Ratten und Hunden zeigen, daß die gemeinsamen Gewebemetaboliten von Piperazin-substituierten und Dimethylamino-substituierten Phenothiazinderivaten, die Phenothiazinylpropylamine, im Harn als entsprechende Sulfoxide (PPA-SO, Cl-PPA-SO, CF_3-PPA-SO) ausgeschieden werden. Dies war der Fall sowohl nach Gabe des unveränderten Pharmakons als auch nach Verabreichung der jeweiligen mono- oder disubstituierten Ethylendiaminderivate.

Über die Kinetik der Gewebemetaboliten von Neuroleptika beim beim Menschen ist aus naheliegenden Gründen bisher wenig bekannt. FORREST, BOLT und SERRA (21) hatten 1968 über die Verteilung

von Gewebemetaboliten des Chlorpromazins in verschiedenen Organen bei 6 autopsierten psychiatrischen Patienten berichtet, die mindestens 4 Monate lang und ununterbrochen bis zu ihrem Tod behandelt worden waren. Beim Vergleich der Chlorpromazin-Metaboliten im Gewebe und im Harn wurden deutliche qualitative und quantitative Unterschiede festgestellt: Während im Harn über 80% als Glukuronide konjugiert, etwa 20% als Chlorpromazin-sulfoxid, demethylierte Chlorpromazin-sulfoxide sowie geringe Mengen der entsprechenden sulfidischen Metaboliten und weniger als 1% als Phenole eliminiert wurden, fanden die Autoren im Gewebe mehr als 50% unverändertes Chlorpromazin sowie dessen beide Demethylierungsprodukte, etwas weniger als 50% betrug der Anteil phenolischer Metaboliten, und nur in Spuren waren Glukuronide nachweisbar.
Aus diesem Befund leiteten FORREST et al. die Folgerung ab, daß die Harnmetabolitenmuster keinesfalls auf die Art und Menge der Gewebemetaboliten rückschließen lassen.

Kinetische Studien renal ausgeschiedener Metaboliten wurden beim Menschen mit verschiedenen Phenothiazin-Derivaten durchgeführt. Bei der Untersuchung der Harnmetaboliten des Perazins bei psychiatrischen Patienten stellte BREYER (5) fest, daß der Gesamtanteil der aus dem Harn extrahierbaren Perazin-Metaboliten 15-30% der oral verabreichten Dosis beträgt. Obwohl im Prinzip für den Perazin-Stoffwechsel in vivo dieselben Stoffwechselwege wie für Chlorpromazin nachgewiesen werden konnten, gibt es bei der Harnmetabolitenausscheidung der beiden Phenothiazine erhebliche quantitative Unterschiede: Nach Perazin-Gabe werden hauptsächlich Phenol-glukuronide im Harn ausgeschieden und außerdem große Mengen an N-oxiden.
In einer vergleichenden Studie mit 8 psychiatrischen Patienten, die 3 1/2 bis 6 Wochen lang nach Beginn einer Therapie mit Perazin verfolgt wurden, konnten KANIG und BREYER (29) als charakteristische Veränderung der Harnmetabolitenmuster einen Anstieg der Demethylierungsrate innerhalb der ersten 4 Wochen nach Behandlungsbeginn feststellen. Vergleicht man diese Befunde

mit dem Zeitverlauf der Harnmetabolitenausscheidung des Patienten M.S., so findet sich hier keine signifikante Steigerung des Verhältnisses DMP-SO zu Per-SO innerhalb von 4 Wochen (von 0,57 auf 0,59). Dabei bleibt jedoch zu berücksichtigen, daß die erstmalige Bestimmung der Harnmetaboliten 7 Tage nach Beginn der Behandlung möglich war und außerdem ein kurzfristiges eigenmächtiges Aussetzen der Perazin-Einnahme durch den Patienten angenommen werden muß.
Für den Fall einer Dosisreduktion um 30% oder mehr wiesen KANIG und BREYER ebenfalls eine deutliche Zunahme der Demethylierungsrate nach. Dieses Verhalten kann bei dem Patienten A.H. bestätigt werden, wo nach der Dosisreduktion von 400 mg/die auf 250 mg/die die Demethylierungsrate von vorher durchschnittlich 0,70 auf 0,94 (3 Tage nach der Dosiserniedrigung) ansteigt und nach 2 Wochen wieder auf 0,69 absinkt.
BREYER und GAERTNER (8) berichteten 1973 über 2 Patienten, deren Harnmetaboliten einige Zeit während und nach der Therapie mit Perazin verfolgt worden waren: Ein Patient war 5 Wochen lang mit einer durchschnittlichen Tagesdosis von etwa 480 mg Perazin/die (letzte Dosierung: 600 mg/die) behandelt worden. Nach Absetzen blieb Per-SO 7 Tage lang in stark abnehmenden Mengen nachweisbar und das DMP-SO etwa doppelt so lange, nämlich zwischen 14 und 21 Tage lang. PPMED-SO und PPED-SO, die gemeinsam (d.h. ohne Anwendung einer zusätzlichen dritten chromatographischen Auftrennung in die beiden Einzelsubstanzen) bestimmt wurden konnten während des gesamten Untersuchungszeitraums von 31 Tagen in langsam abnehmenden Mengen im Harn bestimmt werden. Die Ausscheidung von PPA-SO hat innerhalb der 31 Tage nach Absetzen sogar auf die doppelte bis dreifache Menge (des Ausgangswertes bei Beendigung der Behandlung) zugenommen und betrug somit drei- bis fünfmal soviel wie die Summe der Ethylendiaminderivate.
Der zweite Patient hatte während einer 4-wöchigen Therapie eine durchschnittliche Tagesdosis von etwa 530 mg Perazin/die (letzte Dosierung: 600 mg/die) erhalten. Bis 5 Tage nach Absetzen wurde Per-SO in steil abfallenden Konzentrationen im Harn gefunden. DMP-SO wurde innerhalb von 14 Tagen in allmäh-

lich abnehmenden Mengen im Harn ausgeschieden. Die gemeinsam bestimmten Ethylendiaminderivate PPMED-SO und PPED-SO blieben über die gesamte Beobachtungszeit von 18 Tagen in langsam absteigenden Mengen nachweisbar. PPA-SO konnte ebenfalls 18 Tage lang nach Absetzen in parallel zur Summe von PPMED-SO und PPED-SO abnehmendem Maße bestimmt werden, wobei die Absolutmenge an ausgeschiedenem PPA-SO etwa dem 1 1/2-fachen der Summe der Ethylendiamine entsprach.
Stellt man diesen 2 Fällen der Metabolitenausscheidung nach Absetzen der Therapie mit Perazin den Zeitverlauf der bei der Patientin A.W. gemessenen Harnmetabolitenausscheidung gegenüber, so ist zu berücksichtigen, daß in diesem Fall die Behandlung zwar 12 Wochen lang, jedoch mit einer niedrigeren durchschnittlichen Tagesdosis von 400 mg durchgeführt worden ist. Zusätzlich besteht Anlaß zur Vermutung, daß die Patientin die verordnete Dosis Perazin nicht regelmäßig eingenommen hat. Dies könnte erklären, daß sich 9 Tage nach Absetzen nicht nur - wie es zu erwarten war - kein Per-SO mehr im Harn befand, sondern auch kein DMP-SO mehr nachzuweisen war.
Bei der Patientin A.W. konnten auch die beiden Ethylendiaminderivate nur jeweils bis 21 Tage nach der letzten Perazin-Gabe quantitativ im Harn bestimmt werden. Als Ursachen für diesen im Vergleich mit den beiden zitierten Fällen kürzeren Zeitraum kommen in Frage: Die um 30% niedrigere Dosierung des Perazins; der Substanzverlust für den zusätzlichen dritten chromatographischen Schritt, da hier die beiden Ethylendiaminderivate getrennt bestimmt worden sind; die darauffolgende Harnsammlung fand erst am 38. Tag nach Absetzen statt; möglicherweise wären bei engmaschiger Kontrolle PPMED-SO und PPED-SO noch längere Zeit quantitativ im Harn nachweisbar geblieben.
Die Tatsache, daß PPA-SO 42 Tage nach Absetzen noch quantitativ im Harn bestimmt werden konnte, läßt - gerade bei Berücksichtigung der niedrigen Wiedergewinnungsrate von PPMED-SO und PPED-SO - den Schluß zu, daß mit Hilfe einer empfindlicheren Analysentechnik die beiden Ethylendiaminderivate noch längere Zeit hätten nachgewiesen werden können.

4.4. Beziehungen zwischen dem Muster der Harnmetaboliten, der MHPG-Ausscheidung im Harn und dem psychopathologischen Befund.

Bei zwei der drei untersuchten Patienten lag als Information über den Verlauf des psychopathologischen Befundes nur eine globale Beurteilung durch den behandelnden Stationsarzt vor, die den Krankenblättern und der Epikrise entnommen worden war: Obwohl es bei den Patienten M.S. und A.H unter der Therapie mit Perazin zu einer deutlichen Besserung der Krankheitssymptome gekommen ist, fehlen für die exakte Ermittlung einer Korrelation zwischen dem klinischen Bild und dem Ausscheidungsverhalten der im Harn bestimmten Perazin-Metaboliten damit die Grundlagen.
Für die Patientin A.W. fiel die in zehn- bis vierzehntägigem Abstand durchgeführte Fremdbeurteilung während der letzten 4 Wochen vor Absetzen (der insgesamt 12 Wochen dauernden Perazin-Behandlung) mit etwa konstanten BPRS-Gesamt-Scores zwischen 46 und 50 relativ schlecht aus. In demselben Zeitraum wurden für die Mengen der ausgeschiedenen Harnmetaboliten des Perazins stark schwankende Werte gemessen. Nach Absetzen der neuroleptischen Behandlung kam es zu einer progressiven Verbesserung der klinischen Symptomatik, bis etwa ab der dritten neuroleptika-freien Woche ein recht stabiler Zustand erreicht wurde, der bis zum Ende des Beobachtungszeitraums in der 7. Woche nach Absetzen anhielt. Der BPRS-Gesamt-Score betrug zwischen 26 und 21, was einer Verbesserung der psychopathologischen Bewertung auf nur noch 1/10 (verglichen mit den ursprünglich gemessenen Ausgangswerten) entspricht. Der klinische Verlauf und die Harnausscheidungskinetik der verschiedenen Perazin-Metaboliten lassen sich auch in diesem Fall nicht in der Weise einander zuordnen, daß eine Korrelation deutlich wird. Die Besserung des psychopathologischen Befundes (die erst nach Absetzen der Perazin-Behandlung in der Phase abfallender Mengen von ausgeschiedenem PPMED-SO, PPED-SO und PPA-SO eingetreten war) hielt noch zu einer Zeit an, als auch für den am längsten nachweisbaren Metaboliten PPA-SO die Grenze des quantitativen Nachweises im Harn unterschritten worden war.

Während als Hauptmetabolit von Noradrenalin im Organismus außerhalb des Zentralen Nervensystems 3-Methoxy-4-hydroxy-mandelsäure gebildet und renal ausgeschieden wird, ist das Noradrenalin innerhalb des Zentralen Nervensystems hauptsächlich einem reduktiven Stoffwechsel unterworfen, so daß überwiegend das entsprechende Glykol gebildet wird (38). Der durchschnittliche Anteil des im Harn beim Menschen ausgeschiedenen 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglykols, der aus dem Gehirn stammt, wird auf 63% geschätzt (31).
SEDVALL et al. (39) haben den Zusammenhang von pharmakokinetischen Daten, Veränderungen bestimmter biochemischer Parameter und klinischem Verlauf während einer Therapie mit verschiedenen Dosierungen von Chlorpromazin nach jeweils 2 und 4 Wochen untersucht. Dabei konnten sie eine Korrelation von biochemischen Veränderungen im Zentralen Nervensystem und antipsychotischem Effekt während der neuroleptischen Therapie nachweisen: Der Verlauf der Konzentration von MHPG im Liquor cerebrospinalis korrelierte am besten von den untersuchten biochemischen Parametern mit der klinischen Besserung der Schizophreniesymptome.

Bis jetzt blieb ungeklärt, über welchen Mechanismus es zu einer Verminderung des MHPG-Spiegels im Liquor im Verlaufe einer erfolgreichen Neuroleptikatherapie kommt. Daher erschien die Bestimmung der MHPG-Ausscheidung im Harn psychiatrischer Patienten während und nach Absetzen der Behandlung mit Perazin von Interesse. Aus dem Vergleich der unter 3.4. angegebenen Ergebnisse der MHPG-Ausscheidung im Harn mit dem Verlauf der unter 3.5.beschriebenen psychopathologischen Entwicklung wird jedoch kein eindeutiger Zusammenhang deutlich.

Interessanterweise wurden bei dem Patienten A.H., der sehr sorgfältig die 24 Stunden-Harnsammlungen durchgeführt hatte, während der therapeutisch erfolgreichen Perazin-Behandlung sehr konstante Werte für die (absolute oder relative, auf die Kreatininausscheidung bezogene) MHPG-Ausscheidung im Harn gemessen, wobei auch nach der Dosisreduktion keine Veränderung eintrat. Diese Beobachtung muß nicht als den oben erwähnten Liquorbefunden widersprechend interpretiert werden. Möglicherweise ist schon in den ersten 5 Behandlungswochen eine

Änderung eingetreten, die während des Beobachtungszeitraums zwischen der 6. und 14. Woche stabil blieb. Es kann auch sein, daß die MHPG-Ausscheidung im Harn kein Parameter ist, der die Veränderung des zentralen MHPG-Spiegels reflektiert, weil sie durch den aus dem peripheren Stoffwechsel stammenden Beitrag an MHPG maskiert bleibt.

4.5. Pharmakologisch aktive Neuroleptika-Metaboliten

Eine unentschiedene Frage der Psychopharmakologie ist die nach dem pharmakodynamisch aktiven Agens: Ist das unveränderte Molekül eines Neuroleptikums die therapeutisch wirksame Substanz, oder muß diese erst als Metabolit im Organismus gebildet werden?
Die Hypothese des Umbaus zu in vivo erst bioaktivierten Metaboliten wird nicht allgemein akzeptiert, weil Rezeptor-Bindungsstudien gezeigt haben, daß es auch zu einer selektiven Bindung der unveränderten Pharmaka kommt. So hatten SEEMAN et al. (40) zeigen können, daß alle bisher getesteten klinisch wirksamen antipsychotischen Pharmaka - unabhängig von ihrer chemischen Struktur - die Bindung von ^{3}H-Haloperidol blockieren, und zwar in Konzentrationen, die umgekehrt mit ihrer neuroleptischen Potenz korrelieren.
SEDVALL et al. (39) hatten gefunden, daß zwar die Konzentration des Chlorpromazin selbst, nicht jedoch der Chlorpromazin-Metaboliten in Plasma und Liquor mit der Erhöhung des Homovanillinsäurespiegels im Liquor korrelierte. Daraus zogen sie den Schluß, daß das unveränderte Chlorpromazinmolekül als Induktor des biochemischen Effektes wirksam sein muß.

Andererseits gibt es Argumente für die Hypothese, daß die (qualitativ ähnlichen) erwünschten und unerwünschten Wirkungen einer neuroleptischen Therapie nicht oder nicht nur durch die unveränderte Substanz, sondern durch aktive Metaboliten bedingt sind. Von CURRY und MARSHALL (17) wurde festgestellt, daß das an Patienten verabreichte Chlorpromazin

schnell im Plasma nicht mehr nachweisbar war; gleichzeitig erschienen jedoch mehrere Metaboliten.
Auch die Beobachtungen der erst mit einiger Verzögerung nach Beginn einer Therapie eintretenden klinischen Wirkung und des anhaltenden Effekts auch nach Absetzen lassen vermuten, daß es sich bei den biologisch wirksamen Metaboliten um Substanzen handelt, die entweder selbst im Gewebe akkumulieren oder aber erst gebildet werden aus im Gewebe gespeicherten Vorläufern. Nachdem man bei der Untersuchung des Stoffwechsels der Phenothiazine, und besonders des meistverwendeten Chlorpromazins, zahlreiche Metaboliten entdeckt hatte, waren bei den anschließenden Studien zur pharmakologischen Wirksamkeit zunächst keine Substanzen gefunden worden, die potenter als die unveränderten Pharmaka waren. POSNER et al. (36) hatten untersucht, ob einige der Metaboliten von Chlorpromazin und Promazin zumindest teilweise zur Wirkung der Neuroleptika beitragen. Die Überprüfung anhand von 4 Versuchsanordnungen (Verstärkung des Hexobarbital-Schlafs, Abnahme der lokomotorischen Aktivität, Verschlechterung des konditionierten Verhaltens beim Lernen durch Erfolg beziehungsweise Mißerfolg) zeigte durchgehend, daß das monodemethylierte Chlorpromazin fast so potent war wie Chlorpromazin selbst; Chlorpromazin-NO war weniger aktiv, das CP-SO war kaum wirksam. Bei den phenolischen Promazin-Metaboliten ist entscheidend, an welcher Stelle im Ringsystem die Hydroxylierung stattgefunden hat: Nach Hydroxylierung an Position 4 des Phenothiazinringsystems entsteht ein aktiver Metabolit; erfolgt die Einführung der OH-Gruppe jedoch an Position 2, so ist der Metabolit weniger wirksam. Die Bedeutung der N,N-Dimethyl-Konfiguration für die pharmakologische Wirkung von Chlorpromazin haben auch BRUNE et al. (14) festgestellt: In Verhaltensstudien an Ratten (Verminderung der Aktivität) und elektrophysiologischen Studien bei Kaninchen (Erhöhung des Schwellenwerts für Recruitment-Antworten nach Thalamusstimulation; Blockade der Weckreaktion auf Schmerz) erwies sich Chlorpromazin als 2-3 mal potenter als Monodesmethylchlorpromazin; Didesmethylchlorpromazin war am wenigsten aktiv. Die progressive Demethylierung von Chlorpromazin

schien also mit einer Abnahme der pharmakologischen Potenz einherzugehen. Nachdem NYBÄCK et al. (33) gezeigt hatten, daß eine spezifische Wirkung der Neuroleptika die Beschleunigung des Dopamin-Turnovers im Gehirn von Mäusen ist und sie diesen Effekt mit der antipsychotischen Wirkung in Zusammenhang brachten, wurden von NYBÄCK und SEDVALL (34) auch einige Chlorpromazin-Metaboliten überprüft auf ihre Potenz, die Akkumulation und Elimination von Dopamin in Mäusegehirnen zu beschleunigen. Dabei waren Monodesmethylchlorpromazin und Didesmethylchlorpromazin sowie 7-Hydroxychlorpromazin ungefähr so stark wirksam wie Chlorpromazin selbst, Chlorpromazinsulfoxid war dagegen unwirksam. Geht man davon aus, daß die Stimulation des Dopamin-Turnovers indirekt durch einen kompensatorischen feedback-Mechanismus bedingt ist, welcher nach der Dopamin-Rezeptor-Blockade durch das Chlorpromazin ausgelöst wird, so stellen die von NYBÄCK und SEDVALL bei der Testung der Metaboliten gefundenen Ergebnisse eine Bestätigung der röntgenkristallographischen Befunde von HORN und SNYDER (27) dar: Die Dopamin-Struktur stimmt mit dem A-Ring und der Seitenkette des unveränderten Chlorpromazin-Moleküls sowie den 7-hydroxylierten, N-oxidierten und beiden demethylierten Chlorpromazin-Metaboliten überein. Dagegen wird durch die Sulfoxidation vermutlich der Kontakt zwischen dem Chlorpromazin-Molekül und dem Dopamin-Rezeptor gestört. CREESE et al. (16) fanden, daß die Erkennungsstelle des Dopamin-Rezeptors im Hirngewebe durch ^{3}H-Haloperidol markiert werden kann, wobei die Stärke der Affinität von (das ^{3}H-Haloperidol verdrängenden) Neuroleptika eine Vorhersage über deren antipsychotische Potenz in vivo ermöglicht. Bei der entsprechenden Untersuchung verschiedener Chlorpromazin-Derivate und -Metaboliten wurde deutlich, daß es bei den phenolischen Chlorpromazin-Derivaten - abhängig von der Position am Ringsystem, an der hydroxyliert wird - große Unterschiede der Affinität zum Dopamin-Rezeptor gibt. Bei der Überprüfung einiger Chlorpromazin-Metaboliten war das Chlorpromazinsulfoxid (in Übereinstimmung mit den oben aufgeführten Befunden) unwirksam. Auch für das Chlorpromazin-N-oxid wurde keine Aktivität gefunden, so daß die neuroleptische

Wirksamkeit bei in-vivo-Tests möglicherweise auf die Konversion zu Chlorpromazin zurückgeführt werden muß.
In Bezug auf die beiden N-demethylierten Chlorpromazin-Metaboliten stimmen die Ergebnisse aus den in-vivo-Versuchen und den in-vitro-Tests der Verdrängung von ^{3}H-Haloperidol überein: Verglichen mit Chlorpromazin selbst beträgt die Affinität des monodemethylierten Chlorpromazin 1/3, die des didemethylierten Chlorpromazin 1/10.
Weil damit gerechnet werden muß, daß bei Versuchen am Ganztier die Phenothiazine und deren Metaboliten während der Untersuchung in einigen Organen der Peripherie, besonders in der Leber, einem kontinuierlichen Umbau unterworfen sind, benutzten KRIEGLSTEIN et al. (30) das isolierte und perfundierte Rattenhirn, um die zentrale Aktivität von Chlorpromazin mit der einiger seiner Metaboliten zu vergleichen. Als Kriterien für die zentrale Wirksamkeit wurden zum einen die Erhöhung des Homovanillinsäurespiegels im Striatum als Ausdruck eines beschleunigten Dopamin-Turnovers, zum anderen Amplitudenänderung und Frequenzzusammensetzung im EEG registriert. Während der biochemische Effekt des Chlorpromazin-N-oxids größer war als der des unveränderten Chlorpromazins, ließ sich für Monodesmethylchlorpromazin und Didesmethylchlorpromazin kein Einfluß nachweisen. Auch bei der Überprüfung der elektrophysiologischen Veränderungen erwies sich das Chlorpromazin-N-oxid als aktivste Substanz, während der Effekt der beiden Demethylierungsprodukte weit unter dem des Chlorpromazin lag. Somit wurde unter den geschilderten Bedingungen zum ersten Mal und den bisherigen Veröffentlichungen über die vermeintlich schwächere Potenz des Chlorpromazin-N-oxids widersprechend gefunden, daß die zentrale Aktivität eines Neuroleptikums durch einen seiner in vivo gebildeten Metaboliten übertroffen wird. Möglicherweise ist für die unterschiedlichen Ergebnisse auch die chemische Instabilität des N-oxids mitverantwortlich, wobei außer der Reduktion zur Ausgangssubstanz auch die Bildung des Sulfoxids vorkommt.
Trotz der zum Teil widersprüchlichen Angaben über die zentrale

Wirksamkeit einzelner beim Tier und beim Menschen gefundener Metaboliten von Neuroleptika kann als gesichert gelten, daß es bei dem Prototyp der Phenothiazin-Neuroleptika Chlorpromazin mit zunehmender Demethylierung zu einer Abnahme der neuroleptischen Aktivität in der Reihenfolge Chlorpromazin, Monodesmethylchlorpromazin, Didesmethylchlorpromazin kommt. Dem primären Amin des Chlorpromazins, Cl-PPA, entspricht beim Perazin das in der vorliegenden Arbeit als Sulfoxid untersuchte PPA. In tierexperimentellen Tests wäre das chlorfreie Analogon des Cl-PPA jedoch sicher weniger wirksam, weil die Halogensubstitution am trizyklischen Ringsystem der Phenothiazine immer mit einer Wirkungsverstärkung einhergeht.

4.6. Neuroleptika - Absetzversuche

Während die Notwendigkeit der neuroleptischen Behandlung einer akuten Schizophrenie allgemein anerkannt wird, ist das Verfahren, chronisch schizophrene Patienten oft jahrelang mit denselben Neuroleptika und manchmal unter Beibehaltung eines starren Dosierungsschemas zu behandeln, teilweise umstritten. Es müssen die Nachteile einer Langzeittherapie wie unerwünschte somatische Wirkungen (Spätdyskinesien, okulo-kutane Veränderungen, Leberparenchymschädigung) und negative nivellierende Einflüsse auf die Psyche des behandelten Patienten abgewogen werden gegen das Risiko des psychotischen Rückfalls nach Absetzen des Neuroleptikums.
Die klinische Bedeutung der Absetzstudien mit Neuroleptika resultiert zum einen aus der Erfahrung, daß manche chronisch Schizophrene unter Placebo keinen Rückfall erleiden, zum anderen aus dem Interesse an Kriterien einer echten Indikation für Neuroleptika beziehungsweise der Voraussagbarkeit von Rückfällen. Bei solchen Untersuchungen dürfen jedoch auch andere auf den Patienten wirksame Umweltfaktoren psychologischer, wirtschaftlicher, beruflicher und sozialer Art nicht unterschätzt werden (18).

Von überwiegend wissenschaftlichem Interesse sind solche Arbeiten, bei denen die Untersuchung des psychopathologischen Verlaufs nach Absetzen eines Neuroleptikums mit dem Studium der Ausscheidungskinetik von Harnmetaboliten des verwendeten Pharmakons kombiniert werden. Außer dem Versuch, aufgrund der renal eliminierten Metaboliten direkt oder indirekt auf die chemische Struktur möglicher pharmakodynamisch aktiver Substanzen zu schließen, wurde auch geprüft, ob die Dauer der antipsychotischen Wirkung nach Absetzen und die Zeit der Nachweisbarkeit von Harnmetaboliten des entsprechenden Neuroleptikums miteinander korrelieren. Eine der Publikationen stammt von SVED et al. (42): Nachdem 26 chronisch schizophrene Patienten während einer 6-16 Wochen dauernden "Sättigungsphase" relativ hohe Chlorpromazin-Tagesdosen von 800 bis 1.200 mg erhalten hatten, wurden in der sogenannten "Auswaschphase" die mit dem Harn ausgeschiedenen phenolischen und sulfoxidischen Chlorpromazin-Metaboliten säulenchromatographisch isoliert und fluorometrisch gemessen. Dabei sanken die Ausscheidungsmengen kontinuierlich bis auf ein Minimum ab, das zwischen der dritten und vierten behandlungsfreien Woche erreicht wurde. Nach SVED fiel nach Ablauf von etwa 30 Tagen das Verschwinden meßbarer Mengen von Chlorpromazin-Harnmetaboliten zusammen mit der Wiederkehr von psychotischen Symptomen. Man muß jedoch die Frage nach der Signifikanz dieser festgestellten Koinzidenz stellen. Es geht aus der Studie nicht hervor, bei wievielen Patienten nach etwa vier Wochen der Rückfall auftrat; es ist fraglich, ob die "Sättigungsphase" und die Absetzdauer lang genug waren; die Grenze für die Nachweisbarkeit von Metaboliten ist relativ und abhängig von der Empfindlichkeit der verwendeten Methode; eine doppelblinde Versuchsanordnung wurde nicht angegeben.
Paradoxerweise wurde bei dem in der hier vorgelegten Arbeit untersuchten Fall der Patientin A.W. während der Therapie mit Perazin eine nur relativ geringe klinische Besserung erzielt, verglichen mit dem positiven Verlauf des psychopathologischen Befundes nach Absetzen der neuroleptischen Behandlung. Die Normalisierung des Gesamt-Scores der BPRS hielt bei sinkenden Mengen ausgeschiedener sulfoxidischer Perazin-Metaboliten noch

an, selbst nachdem die Grenze für den quantitativen Nachweis unterschritten war.

In Bezug auf das praxisorientierte Problem des Absetzens einer Langzeittherapie bei ambulant versorgten und bei hospitalisierten chronisch schizophrenen Patienten ergaben sich zum Teil stark voneinander abweichende Aussagen bezüglich der Rückfallquoten (definiert als Anteil der klinisch verschlechterten oder rehospitalisierten Patienten an der Gesamtzahl der abgesetzten Patienten) für unterschiedlich lange Absetzzeiträume. Dies ist nach PRIEN et al. (37) selbst dann der Fall, wenn die Studien ähnlich angelegt waren.

ANDREWS et al. (1) faßten als wichtigste methodische Fehler bei Absetzstudien die folgenden zusammen:

1) zu kurze Absetzdauer;
2) keine Definition der Diagnose oder Einschluß eines zu großen Krankheitsspektrums;
3) keine doppelblinde Versuchsanordnung oder fehlende Placebosubstitution;
4) keine systematische Verlaufskontrolle oder Gebrauch lokal entwickelter Skalen, die keinen Vergleich mit anderen Studien ermöglichen;
5) keine Information über Krankheitsdauer oder Länge der Hospitalisierung vor Absetzen;
6) Patienten werden nicht mit einem Phenothiazin vor Absetzen stabilisiert, Dosisangaben fehlen;
7) zu kleine Patientenzahl;
8) Rückfallkriterien wurden nicht definiert;
9) es wurde nicht überprüft, ob die Patienten vor Absetzen die verordnete Neuroleptikamedikation tatsächlich eingenommen haben.

PRIEN et al. (37) hatten in ihrer Studie mit 179 abgesetzten Patienten bei einer Absetzdauer von 6 Monaten alle oben angeführten Fehlerquellen (bis auf die letzte) vermieden: Die Rückfallrate der Patienten aus der Placebo-Gruppe war mit 40% signifikant höher als die der Patienten unter aktiver Therapie (20%). Die Häufigkeit der psychotischen Rückfälle war bei der Placebo-Gruppe in den ersten 6 Wochen nach Absetzen gering; die meisten

Rückfälle, nämlich 72%, traten in der Zeit zwischen der 6. und 16. Woche auf. Es wurde eine Abhängigkeit der Wahrscheinlichkeit für einen Rückfall festgestellt

a) von der Neuroleptikadosis vor Absetzen (je geringer die Erhaltungsdosis, desto weniger Rückfälle),
b) vom Alter der Patienten (je älter die Patienten, desto weniger Rückfälle),
c) von der Krankheits- und Hospitalisationsdauer (je länger, desto weniger Rückfälle).

Weil sich durch kontrollierte Doppelblindstudien die Wirksamkeit einer Therapie am besten nachweisen läßt, hatte DAVIS (18) alle entsprechenden, bis 1975 veröffentlichten Absetzversuche mit einer Dauer von über 4 Wochen zusammengefaßt, um den Grad der prophylaktischen Wirksamkeit und dessen statistische Signifikanz bei ambulant behandelten und bei hospitalisierten Patienten zu bestimmen :

1) In jeder der 24 Studien mit insgesamt 3385 Patienten war die Anzahl der Rückfälle bei den Placebo-Gruppen größer als bei den Verum-Gruppen. Insgesamt 65% der Patienten, die ein Placebo-Präparat erhalten hatten, bekamen einen psychotischen Rückfall; bei den Patienten, die weiter ein wirksames Neuroleptikum einnahmen, betrug die Rückfallquote weniger als die Hälfte, nämlich 30%. Somit kann als statistisch gesichert gelten, daß Neuroleptika einen psychotischen Rückfall verhindern.
2) Über den Zeitverlauf der Rückfälle ließ sich aussagen, daß das Risiko in den ersten paar Tagen und Wochen im allgemeinen gering ist. (Manche Autoren haben allerdings in den ersten 2 bis 14 Tagen nach Absetzen der Therapie auch Entzugssymptome beobachtet, die unter Umständen mit einem psychotischen Rückfall verwechselt werden können. Als Ursache kommt nicht nur das abgesetzte Neuroleptikum, sondern auch der Wegfall eines zusätzlich gegebenen Antiparkinsonmittels in Frage).
3) Bezüglich der Notwendigkeit, eine neuroleptische Therapie weiterzuführen, beziehungsweise der Kriterien für einen psychotischen Rückfall kann man zusammenfassen, daß die

Krankheitsdauer und das Alter des Patienten sowie die Medikamentenanamnese (Reaktion auf Dosisveränderungen, letzte Erhaltungsdosis, Auslaßversuche) eine Rolle spielen.

Aus der neuesten Literaturzusammenfassung der von 1955 bis 1979 publizierten Ergebnisse über Neuroleptika-Absetzversuche bei chronisch schizophrenen Patienten von WOGGON (55) ergab sich,

1) daß ungefähr die Hälfte der chronisch Schizophrenen ohne Neuroleptika-Behandlung innerhalb von Monaten einen Rückfall erleidet, woraus sich umgekehrt ableiten läßt, daß etwa 50% der Patienten einer neuroleptischen Therapie nicht mehr bedürfen und so unnötigerweise den damit verbundenen Risiken ausgesetzt sind;
2) daß die Rückfallgefahr um so geringer ist, je kleiner die Erhaltungsdosis ist, je älter der Patient ist und je länger seine Krankheits- und Hospitalisationsdauer sind;
3) daß sich ein psychotischer Rückfall bei einem bestimmten Patienten dann am zuverlässigsten voraussagen läßt, wenn dessen Reaktion auf das Absetzen von Neuroleptika bekannt ist.

Als klinisch wichtige Konsequenz folgerte WOGGON daraus, daß individuelle Absetzversuche bei der Langzeittherapie chronisch Schizophrener notwendig sind und nur ein drohender oder eingetretener psychotischer Rückfall (der nach Wiederaufnahme der neuroleptischen Medikation im allgemeinen rasch kompensierbar ist) eine Weiterbehandlung rechtfertigt.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Das relativ späte Einsetzen der therapeutischen Wirkung von neuroleptisch aktiven Phenothiazinen nach Beginn einer Behandlung, der über das Therapieende hinaus anhaltende antipsychotische Effekt und die charakteristischen spät auftretenden unerwünschten Wirkungen (z.B. Spätdyskinesien) waren Anlaß für pharmakokinetische Untersuchungen, da als mögliche Ursache für diese Phänomene die Akkumulation von bestimmten Phenothiazin-Metaboliten im Organismus in Frage kommt.
Der Nachweis von renal ausgeschiedenen Biotransformationsprodukten der Phenothiazine erlaubt Rückschlüsse auf die entsprechenden Gewebemetaboliten im Organismus. Deshalb wurde die Ausscheidungskinetik von 5 Harnmetaboliten des Piperazin-substituierten Phenothiazin-Derivats Perazin (=Taxilan®) anhand von Längsschnittuntersuchungen bei 3 psychiatrischen Patienten unter verschiedenen Bedingungen (zu Beginn einer Therapie; während einer Therapie und nach Dosisreduktion; nach Absetzen) verfolgt.
Per-SO und 4 weitere sulfoxidische Perazin-Metaboliten wurden mit Chloroform extrahiert, anschließend mehrfach dünnschichtchromatographisch aufgetrennt und dann mit Hilfe der UV-Spektrophotometrie quantitativ bestimmt. Die Meßergebnisse wurden durch die experimentell ermittelten Wiedergewinnungsraten korrigiert. Parallel dazu wurde die MHPG-Ausscheidung im Harn gemessen und der Verlauf des psychopathologischen Befundes dokumentiert.

1. Die Ergebnisse der Wiedergewinnungsversuche fielen für die 5 untersuchten Perazin-Metaboliten sowohl in Bezug auf die wiedergewonnenen Absolutmengen als auch im Hinblick auf die Abhängigkeit von der Menge eingesetzter Substanz unterschiedlich aus: Die Wiedergewinnungsraten für das Sulfoxid des unveränderten Perazins und für dessen Demethylierungsprodukt waren relativ hoch, während die Metaboliten mit sekundären beziehungsweise primären Aminogruppen (PPMED-SO; PPED-SO; PPA-SO) in geringeren Mengen wiedergewonnen wurden.

2. Bei einem Patienten wurde zu Beginn einer Behandlung zwischen der ersten und fünften Woche für die beiden Metaboliten Per-SO und DMP-SO ein geringerer und weniger lange anhaltender Anstieg der renal ausgeschiedenen Mengen gemessen als für die durch partiellen oder totalen Piperazinringabbau entstandenen Metaboliten PPMED-SO, PPED-SO und PPA-SO.

3. Bei einem Patienten blieben während einer länger dauernden Behandlung mit gleichbleibender Dosis zwischen der fünften und neunten Woche die Harnausscheidungsmengen aller 5 Metaboliten konstant. Nach einer Dosisreduktion verringerten sich die Ausscheidungsmengen von Per-SO und - etwas verzögert - von DMP-SO proportional zur Dosis, während die von PPMED-SO, PPED-SO und PPA-SO unverändert blieben.

4. Bei einer Patientin wurden nach Absetzen einer drei Monate dauernden Behandlung im Harn PPMED-SO und PPED-SO in absteigenden Mengen 3 Wochen lang quantitativ nachgewiesen, PPA-SO 6 Wochen lang.

5. Ein Zusammenhang zwischen dem Muster der Harnmetaboliten, der MHPG-Ausscheidung im Harn und der psychopathologischen Entwicklung konnte nicht festgestellt werden.

Im Gegensatz zu der prompten und dosisproportionalen Veränderung der Elimination von Per-SO und DMP-SO nach einer Änderung des Dosierungsschemas steht das pharmakokinetische Verhalten derjenigen Perazin-Metaboliten, die beim partiellen oder totalen Piperazinringabbau entstehen. Die bei den psychiatrischen Patienten gefundenen Ergebnisse deuten auf eine Akkumulation der Ethylendiaminderivate PPMED und PPED im Gewebe hin und bestätigen damit frühere tierexperimentelle Befunde.

6. LITERATURVERZEICHNIS

(1) Andrews, P.J., J.N. Hall and R.P. Snaith: A controlled trial of phenothiazine withdrawal in chronic schizophrenic patients.
Brit. J. Psychiat. 128; 451 - 455 (1976)

(2) Baldessarini, R.J.: Drugs and the treatment of psychiatric disorders. In: The Pharmacological Basis of Therapeutics; 406-414, Edts. A. Goodman Gilman, L.S. Goodman and A. Gilman, Macmillan Publishing Co., Inc. New York, sixth edition (1980)

(3) Battegáy, R.: Entziehungserscheinungen nach abruptem Absetzen von Neuroleptika als Kriterium zu ihrer Differenzierung. Nervenarzt 37; 552-556 (1966)

(4) Bente, D., J. Feder, H. Helmchen, H. Hippius und W. Mauruschat: Multidimensionale pharmakopsychiatrische Untersuchungen mit dem Neuroleptikum Perazin. - 2. Mitteilung: Verlaufsprofile psychopathologischer und somatischer Merkmale (Untersuchungen mit dem AMP-System).
Pharmakopsychiat. Neuropsychopharmakol. 7; 8-16 (1974)

(5) Breyer, U.: Urinary metabolites of 10 - (-3'- (4''-methyl-piperazinyl)-propyl)-phenothiazine (perazine) in psychiatric patients-I.
Biochem. Pharmacol. 18; 777-788 (1969)

(6) Breyer, U.: Accumulation and elimination of a novel metabolite during chronic administration of the phenothiazine drug perazine to rats.
Biochem. Pharmacol. 21, 1419-1429 (1972)

(7) Breyer, U.: Sustained urinary excretion of perazine metabolites in man following termination of treatment.
Arch. Pharmacol. 274, Suppl. R 22 (1972)

(8) Breyer, U. and H.J. Gaertner: Accumulation and elimination of metabolites in animals and man treated chronically with phenothiazines. In: Toxicology: review and prospect; 59-66, Ed. W.A.M. Duncan, Excerpta Medica, Int. Congr. Serv. 288, Amsterdam (1973)

(9) Breyer, U., H.J. Gaertner and A. Prox: Formation of identical metabolites from piperazine - and dimethylamino-substituted phenothiazine drugs in man, rat and dog.
Biochem. Pharmacol. 23; 313-322 (1974)

(10) Breyer, U., W. Junginger and D. Villumsen: Phenobarbital-induced prolongation of half-life and alteration of distribution of a phenothiazine drug metabolite in the rat.
Biochem. Pharmacol. 25; 2623-2629 (1976)

(11) Breyer, U., D. Krauss and J.C. Jochims: A cumulating metabolite derived from a piperazine-substituted phenothiazine drug.
Experientia 28; 312-313 (1972)

(12) Breyer, U., A. Prox, R. Bertele and H.J. Gaertner: Tissue metabolites of trifluoperazine, fluphenazine, prochlorperazine, and perphenazine in the rat: identification and synthesis.
J. Pharm. Sci. 12; 1842-1848 (1974)

(13) Breyer-Pfaff, U., H. Krefft, H. Rassner and A. Prox: Formation of sulfone metabolites from chlorpromazine and perazine in man.
Drug metab. dispos. 6; 114-119 (1978)

(14) Brune, G.G., H. Kohl, W.G. Steiner and H.E. Himwich: Relevance of the N,N-dimethyl configuration to the pharmacological action of chlorpromazine
Biochem. Pharmacol 12; 679-685 (1963)

(15) Cone, E.J., W.F. Buchwald and W.D. Darwin: Analytical controls in drug metabolic studies. II. Artifact formation during chloroform extraction of drugs and metabolites with amine substituents.
Drug metab. dispos. 10; 561-567 (1982)

(16) Creese, J., A.A. Manian, T.D. Prosser and S.H. Snyder: ^{3}H-Haloperidol binding to dopamine receptors in rat corpus striatum: influence of chlorpromazine metabolites and derivatives.
Europ. J. Pharmacol. 47; 291-296 (1978)

(17) Curry, S.H. and J.H.L. Marshall: Plasma levels of chlorpromazine and some of its relatively non-polar metabolites in psychiatric patients.
Life Sci. 7; 9-17 (1968)

(18) Davis, J.M.: Overview: Maintenance therapy in psychiatry: I. schizophrenia.
Am. J. Psychiat. 132; 1237-1245 (1975)

(19) Enss, H., K. Hartmann, H. Hippius, H.-E. Richter: Klinische Erfahrungen mit einem neuen Piperazin-Derivat des Phenothiazins in der Neuropsychiatrie.
Arch. Psychiatr. Nervenkr. 197; 534 (1958)

(20) Forrest, F.M., I.S. Forrest and A.S. Mason: Review of rapid urine tests for phenothiazine and related drugs.
Am. J. Psychiat. 118; 300-307 (1961)

(21) Forrest, I.S., A.G. Bolt and M.T. Serra: Distribution of chlorpromazine metabolites in selected organs of psychiatric patients chronically dosed up to the time of death.
Biochem. Pharmacol. 17; 2061-2070 (1968)

(22) Forrest, I.S. and F.M. Forrest: On the metabolism and action mechanism of the phenothiazine drugs.
Exp. med. Surg. 21; 231-240 (1963)

(23) Friedhoff, A.J. and E. van Winkle: Isolation and characterization of a compound from schizophrenic urine.
Nature 194; 897-898 (1962)

(24) Gaertner, H.J., G. Liomin, D. Villumsen, R. Bertele and U. Breyer: Tissue metabolites of trifluoperazine, fluphenazine, prochlorperazine, and perphenazine.
Drug metab. dispos. 6; 437-444 (1975)

(25) Gaertner, H.J., G. Wiatr and H.J. Kuss: 4-Methoxy-3-hydroxyphenylglycol as an internal standart for the determination of 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol in urine: results obtained in depressed patients and healthy controls.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 18; 579-583 (1980)

(26) Godefroi, E.F. and E.L. Wittle: The preparation of some derivatives of ß-(10-phenothiazinyl) propionic acid and ß-(2-chloro-10-phenothiazinyl) propionic acid.
J. Org. Chem. 21; 1163 (1956)

(27) Horn, A.S. and S.H. Snyder: Chlorpromazine and dopamine: conformational similarities, that correlate with the antipsychotic activity of phenothiazine drugs.
Proc. nat. Acad. Sci. 68; 2325-2328 (1971)

(28) Jahns, I. and U. Breyer: The rat brain as a "deep compartment" in the kinetics of a common metabolite of prochlorperazine an perphenazine.
Drug metab. dispos. 6; 522-529 (1976)

(29) Kanig, K. and U. Breyer: Urinary metabolites of 10-(3'-(4"-methyl-piperazinyl)-propyl)-phenothiazine (perazine) in psychiatric patients.
Psychopharmacol. 14; 211-220 (1969)

(30) Krieglstein, J., H. Rieger and H. Schütz: Effects of chlorpromazine and some of its metabolites on the eeg and on dopamine metabolism of the isolated perfused rat brain.
Europ. J. Pharmacol. 56; 363-370 (1979)

(31) Mass, J.W., S.E. Hattox, N.M. Greene and D.H. Landis: 3-Methoxy-4-hydroxyphenylethyleneglycol production of human brain in vivo.
Science 205; 1025-1027 (1979)

(32) Mutschler, E.: Arzneimittelwirkungen, S. 117
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart,
4. Aufl. (1981)

(33) Nybäck, H., Z. Borzecki and G. Sedvall: Accumulation and disappearance of catecholamines formed from ^{14}C-tyrosine in mouse brain. Effect of some psychotropic drugs. Europ. J. Pharmacol. 4; 395-403 (1968)

(34) Nybäck, H. and G. Sedvall: Effect of chlorpromazine and some of its metabolites on synthesis and turnover of catecholamines formed from ^{14}C-tyrosine in mouse brain. Psychopharmacol. 26; 155-160 (1972)

(35) Overall, J.E. and D.R. Gorham: The brief psychiatric rating scale. Psychol. Repr. 10; 799-812 (1962)

(36) Posner, H.S., E. Hearst, W.L. Taylor and G.J. Cosmides: Model metabolites of chlorpromazine and promazine: relative activities in some pharmacological and behavioural tests. J. Pharmacol. exp. Ther. 137; 84-90 (1962)

(37) Prien, R.F., J.O. Cole and N.F. Belkin: Relapse in chronic schizophrenics following abrupt withdrawal of tranquillizing medication. Brit. J. Psychiat. 115; 679-686 (1968)

(38) Schanberg, S.M., J.J. Schildkraut, G.R. Breese and I.J.Kopin: Metabolism of normetanephrine-^{3}H in rat brain - identification of conjugated 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol as the major metabolite. Biochem. Pharmacol 17; 247-254 (1968)

(39) Sedvall, G., L. Bjerkenstedt, H. Nybäck and B. Wode-Helgodt: The biochemical pharmacology of chlorpromazine treatment. In: Biochemical Clinical Pharmacology; 49-57, Ed. J.P. Tillement, Pergamon Press Oxford (1979)

(40) Seeman, P., T. Lee, M. Chau-Wong and K. Wong: Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. Nature 261; 717-719 (1976)

(41) Siegel, M. and H. Tefft: "Pink spot" and its components in normal and schizophrenic urine. J. Nerv. Mentl. Dis. 152; 412-426 (1971)

(42) Sved, S., A. Perales and D. Palaic: Chlorpromazine metabolism in chronic schizophrenics. Brit. J. Psychiat. 119; 589-596 (1971)

(43) Vestergaard, P. and R. Leverett: Constancy of urinary creatinine excretion. J. Lab. and Clin. Med. 51; 211 (1958)

(44) Wester, R., P. Noonan, C. Markos, R. Bible jr., W. Aksamit and J. Hribar: Identification of carbamate derivatives formed during chloroform extraction of tricyclic antidepressants from urine. J. Chromatogr. 209; 463-466 (1981)

(45) Woggon, B.: Neuroleptika-Absetzversuche bei chronisch schizophrenen Patienten.
Int. Pharmacopsychiat. 14; 34-56 (1979)

Meinen Dank möchte ich sagen:

Herrn Professor H. Remmer für den mir zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz.

Frau Professor U. Breyer-Pfaff für die Anregung zu dieser Arbeit, die hilfsbereite Anleitung zur technischen Durchführung, die großzügige Unterstützung und die wertvollen Ratschläge.

Herrn Dr. med. habil. H.J. Gaertner für die Vermittlung des Untersuchungsmaterials und die Diskussion über die psychopathologischen Befunde.

Frau G. Wiatr für die MHPG- und Kreatinin-Bestimmungen.

Frau S. Kuthan für die technische Hilfe.

Lebenslauf

Am 11. Januar 1957 wurde ich, Andreas Traugott Lauffer, als Sohn des Verwaltungsdirektors Emil Lauffer und seiner Ehefrau Eva-Maria, geb. Stumpf in Karlsruhe geboren.

Von 1964 bis 1967 besuchte ich die Klassen 1 bis 4 der Volksschule in Karlsruhe. 1967 trat ich in das Max-Planck-Gymnasium in Karlsruhe ein, wo ich am 11. 6. 1976 die Reifeprüfung ablegte. Das Medizinstudium begann ich im Herbst 1976 an der Universität Ulm/Donau, wo ich am 25. 8. 1978 die Ärztliche Vorprüfung ablegte. Nach dem Wechsel an die Eberhard-Karls-Universität in Tübingen im Herbst 1978 absolvierte ich hier am 30. 8. 1979 den ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.

Während des zweiten klinischen Studienabschnittes studierte ich aufgrund eines DAAD-Auslandsstipendiums vom 1. 10. 1980 bis 30. 6. 1981 an der Université de Bordeaux/Frankreich.

Von Februar bis Oktober 1982 arbeitete ich bei Frau Professor Breyer-Pfaff im Institut für Toxikologie der Universität Tübingen an der Dissertation.

Am 18. 3. 1983 bestand ich den Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Tübingen.

Am 18. 4. 1983 habe ich das Praktische Jahr im Bürgerhospital in Stuttgart begonnen, das mit dem Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung am 11. 4. 1984 abgeschlossen wurde.

difo druck
laubanger 15
8600 bamberg
tel.: 0951/64321